



โครงการ  
การเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์

ชื่อโครงการ      การทำนายความสดของไข่ไก่ด้วยเทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปีและ  
เทคนิคเคโมเมทริกซ์

Prediction of egg freshness using Near-infrared diffuse reflection  
analysis and Chemometrics

ชื่อนิสิต            นายธนະสิทธิ์ ไทสงวนงาม

ภาควิชา            เคมี

ปีการศึกษา        2560

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การทำนายความสดของไข่ไก่ด้วยเทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปีและ  
เทคนิคเคโมเมทริกซ์

Prediction of egg freshness using Near-infrared diffuse reflection  
analysis and Chemometrics

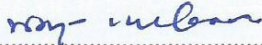
โดย  
นายธนະสิทธิ์ ไหลสงวนงาม

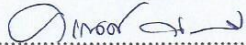
รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร  
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต  
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
ปีการศึกษา 2560


โครงการ การทำนายความสดของไข่ไก่ด้วยเทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปีและเทคนิคเคโมเมทริกซ์  
โดย นายธนະสิทธิ์ ไหลสงวนงาม

ได้รับอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเคมี  
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

คณะกรรมการสอบโครงการ

..... ประธานกรรมการ  
(ศาสตราจารย์ ดร. นงนุช เหมืองสิน)

..... อาจารย์ที่ปรึกษา  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.คณศ วงษ์ระวี)

..... กรรมการ  
(อาจารย์ ดร. จัญจดา อุ่นเรืองศรี)

รายงานฉบับนี้ได้รับความเห็นชอบและอนุมัติโดยหัวหน้าภาควิชาเคมี

..... หัวหน้าภาควิชาเคมี  
(รองศาสตราจารย์ ดร.วุฒิชัย พาราสุข)

วันที่ ..... เดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2561

คุณภาพของการเขียนรายงานเล่มนี้อยู่ในระดับ  ดีมาก  ดี  พอใช้



Project Title Prediction of egg freshness using Near-infrared diffuse reflection analysis and Chemometrics

Student Name Mr. Thanasit Laisanguangam Student ID 5733099723


Advisor Name Assistant Professor Kanet Wongravee, Ph.D.

Department of Chemistry, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Academic Year 2017



### Abstract

To determine freshness of eggs is a crucial step in controlling the quality of eggs. Generally, Haugh unit calculated by measuring the height of the egg white around the egg yolk and the weight of egg is used as a standard indicator to determine the egg freshness. However, it is a destructive protocol which particularly cannot be applied to measure all eggs in the manufacturing process. The aim of this study was to determine egg freshness by non-destructive evaluation using the technique of Near Infrared diffuse reflection spectroscopy combined with Chemometrics. Furthermore, the influences of measuring positions, storage time (0-28 days) and storage temperature on the prediction of the Haugh unit were investigated. Calibration models for prediction of the shelf life based on the spectra of egg samples were performed using partial least square (PLS) regression. The best predictive results were implied with the correlation coefficient ( $R^2$ ) of 0.9994 and 0.9999, the root mean square error of prediction (RMSE) of 0.18 and 0.17 for eggs stored in 4°C and 25°C, respectively. Moreover, it was found that the egg spectra acquired from blunt end provide the accurate results rather than the other positions.



Keywords: Near-infrared spectroscopy, egg freshness, chemometrics, Haugh unit

### กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยและรายงานฉบับนี้จะไม่สำเร็จได้หากไม่ได้รับความกรุณาอย่างสูงจาก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.คณศ วงษ์ระวี อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการที่กรุณาให้ความรู้ คำแนะนำ และแนวทางการดำเนินงานวิจัย อีกทั้งสละเวลาในการให้ความช่วยเหลือในด้านต่างๆ มาโดยตลอดเป็นอย่างยิ่ง

ขอขอบคุณบริษัท เจริญโภคภัณฑ์อาหาร จำกัด (มหาชน) ที่อนุเคราะห์ ไข่ไก่เพื่อใช้สำหรับการทดลอง

ขอขอบคุณพี่ๆ ในห้องปฏิบัติการ SRU ทุกท่านที่ให้ความรู้เกี่ยวกับเทคนิคต่างๆ การดูแลรักษาเครื่องมือ และเอื้อเฟื้ออุปกรณ์จำเป็น รวมถึงให้กำลังใจเสมอมา

ขอขอบคุณคณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้การสนับสนุนการวิจัยครั้งนี้ขอขอบคุณ กำลังใจและความช่วยเหลือจากครอบครัว รวมทั้งเพื่อนๆ พี่ๆ น้องๆ ในภาควิชาเคมีผู้วิจัยระลึกในความกรุณาของทุกท่านที่ได้กล่าวมาข้างต้น และบุคคลที่มีได้เอ่ยนามมา ณ ที่นี้

ผู้วิจัย

## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ค
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ง
กิตติกรรมประกาศ	จ
สารบัญ	ฉ
สารบัญตาราง	ช
สารบัญรูป	ฌ
<b>บทที่ 1 บทนำ</b>	<b>1</b>
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	2
1.3 วัตถุประสงค์และขอบเขตของการวิจัย	3
1.4 ขอบเขตของการวิจัย	3
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
<b>บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง</b>	<b>4</b>
2.1 ไซไ้	4
2.2 การเปลี่ยนแปลงของไซไ้ในระหว่างการเก็บรักษา	5
2.3 หน่วยฮอก (haugh unit)	5
2.4 เนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปี	6
2.5 รูปแบบการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปี	7
2.6 เทคนิคการปรับแต่งข้อมูลก่อนการวิเคราะห์ (data pre-processing techniques)	8
2.6.1 standard normal variate (SNV)	9
2.7 เคมีเมทริกซ์	10
2.7.1 partial least square (PLS)	10
2.8 ค่าทางสถิติที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัย	12
2.8.1 ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient)	12
2.8.2 root mean square error of prediction (RMSEP)	12
<b>บทที่ 3 วิธีดำเนินงานวิจัย</b>	<b>13</b>
3.1 การเก็บรักษาไซไ้	13
3.2 การวัดความสดของไซไ้ด้วยหน่วยฮอก (Haugh unit)	13
3.3 การวัดเนียร์อินฟราเรดสเปกตรัมของไซไ้	13
3.4 อุปกรณ์ (apparatus)	14
3.4.1 เนียร์อินฟราเรดสเปกโทรมิเตอร์ (near-infrared spectrometer)	14
3.4.1.1 แหล่งกำเนิดแสง (light source)	14
3.4.1.2 สายใยแก้วนำแสงและรีเฟล็กซ์ชันโพรบ (fiber optics and reflection probe)	14
3.4.1.3 เครื่องตรวจวัดสัญญาณ (detector)	14
3.4.1.4 สัญญาณเนียร์อินฟราเรด	15

สารบัญ(ต่อ)

	หน้า
3.5 การจัดการข้อมูลหลังจากทำการตรวจวัดด้วยเนียร์อินฟราเรดสเปกโทรมิเตอร์	15
3.6 กระบวนการเตรียมข้อมูลก่อนการวิเคราะห์ (data preprocessing)	15
3.7 การวิเคราะห์ข้อมูลด้วยโปรแกรมแมตแล็บ (MATLAB)	15
<b>บทที่ 4 ผลการวิจัย</b>	<b>16</b>
4.1 ความสัมพันธ์ของหน่วยออกกัับระยะเวลาในการเก็บของไข่ไก่	16
4.2 เนียร์อินฟราเรดสเปกตรัมของไข่ไก่	17
4.3 การทำนายค่าหน่วยออกจากเนียร์อินฟราเรดสเปกตรัมด้วยเทคนิคเคโมเมทริกซ์ (chemometrics)	18
4.3.1 เนียร์อินฟราเรดสเปกตรัมและ standard normal variate ของไข่ไก่	18
<b>บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย</b>	<b>23</b>
เอกสารอ้างอิง	24
ประวัติผู้วิจัย	25





สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 4.1 แสดงจำนวนตัวแปรแฝงที่เลือกใช้ในการทำวิธีกำลังสองน้อยที่สุดบางส่วน ในแต่ละตำแหน่งการวัดของไซโกที่เก็บในตู้เย็น (4 °C)	20
ตารางที่ 4.2 แสดงจำนวนตัวแปรแฝงที่เลือกใช้ในการทำวิธีกำลังสองน้อยที่สุดบางส่วน ในแต่ละตำแหน่งการวัดของไซโกที่เก็บที่อุณหภูมิห้อง (25 °C)	20



## สารบัญรูป

	หน้า
รูปที่ 1.1 อัตราการบริโภคไข่ไก่ของคนไทย ในปี พ.ศ.2556 ถึงปี พ.ศ.2561	1
รูปที่ 2.1 แสดงส่วนประกอบของไข่ไก่	4
รูปที่ 2.2 แสดงส่วนที่เป็นไข่ขาวส่วนข้น (thick egg white) และส่วนที่เป็นไข่ขาวส่วนใส (thin egg white) เมื่อตอกไข่ลงบนพื้นเรียบ	5
รูปที่ 2.3 แสดงการเปลี่ยนแปลงระดับพลังงานของอิเล็กตรอนเมื่อถูกกระตุ้นด้วยแสงเนียร์อินฟราเรด	6
รูปที่ 2.4 แสดงแถบการดูดกลืนแสงของพันธะของหมู่ฟังก์ชันและหมู่ข้างเคียง (neighboring group) ในช่วงความยาวคลื่น 700 nm ถึง 2500 nm	7
รูปที่ 2.5 แสดงรูปแบบในการวัดของเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรมิเตอร์ในรูปแบบต่างๆ	8
รูปที่ 2.6 การเลื่อนฐานของสเปกตรัม (baseline shift) ของเนียร์อินฟราเรดสเปกตรัมของไข่ไก่	9
รูปที่ 2.7 เนียร์อินฟราเรดสเปกตรัมของไข่ไก่ (ซ้าย) ออริจินอล (ขวา)สเปกตรัมหลังจากการทำ SNV แล้ว	10
รูปที่ 2.8 วิธีกำลังสองน้อยที่สุดบางส่วน partial least square หรือ PLS1	11
รูปที่ 3.1 ตำแหน่งในการวัดเนียร์อินฟราเรดสเปกตรัมในไข่แต่ละฟอง	14
รูปที่ 4.1 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างหน่วยฮอก (haugh unit) และวันที่ไข่ไก่ถูกเก็บ ในตู้เย็น (4°C) ที่อุณหภูมิห้อง (25°C)	16
รูปที่ 4.2 เนียร์อินฟราเรดสเปกตรัมเฉลี่ยของไข่ไก่ที่เก็บในตู้เย็น (4°C) หลังจากการทำ standard normal variate (SNV) ในช่วงเลขคลื่นเท่ากับ 4,000-10,000 $\text{cm}^{-1}$ ที่ได้จากการวัดในตำแหน่งต่างๆ	17
รูปที่ 4.3 เนียร์อินฟราเรดสเปกตรัมเฉลี่ยของไข่ไก่ที่เก็บที่อุณหภูมิห้อง (25°C) หลังจากการทำ standard normal variate (SNV) ในช่วงเลขคลื่นเท่ากับ 4,000-10,000 ต่อเซนติเมตร ที่ได้จากการวัดในตำแหน่งต่างๆที่ (A) ไข่ไก่ด้านแหลม (B) ไข่ไก่ระหว่างตรงกลางกับด้านแหลม และระหว่างตรงกลางกับด้านทู่ (C) ไข่ไก่ด้านทู่และ (D) ไข่ไก่ด้านข้าง	18
รูปที่ 4.4 แสดงค่า RMSEP และค่า $R^2$ ของค่าหน่วยฮอกที่ทำนายได้จากวิธีกำลังสองน้อยที่สุดบางส่วนเมื่อใช้จำนวนตัวแปรแฝงตั้งแต่ 1 ถึง จำนวนมากที่สุดของไข่ไก่ที่เก็บในตู้เย็น(4°C)	19
รูปที่ 4.5 แสดงค่า RMSEP และค่า $R^2$ ของค่าหน่วยฮอกที่ทำนายได้จากวิธีกำลังสองน้อยที่สุดบางส่วนเมื่อใช้จำนวนตัวแปรแฝงตั้งแต่ 1 ถึง จำนวนมากที่สุดของไข่ไก่ที่เก็บในอุณหภูมิห้อง(25°C)	19
รูปที่ 4.6 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างหน่วยฮอกที่วัดได้กับค่าหน่วยฮอกที่ได้จากการทำนายด้วยสมการสอบเทียบ ของไข่ไก่ที่เก็บในตู้เย็น (4°C) ในตำแหน่งต่างๆ	21
รูปที่ 4.7 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างหน่วยฮอกที่วัดได้กับค่าหน่วยฮอกที่ได้จากการทำนายด้วยสมการสอบเทียบ ของไข่ไก่ที่เก็บที่อุณหภูมิห้อง (25°C) ในตำแหน่งต่างๆ	21
รูปที่ 4.8 เปรียบเทียบค่า $R^2$ และค่า RMSEP ของความสัมพันธ์ระหว่าง หน่วยฮอกที่วัดได้กับค่าหน่วยฮอกที่ได้จากการทำนายด้วยสมการสอบเทียบของไข่ไก่ที่เก็บในตู้เย็น (4°C) และที่อุณหภูมิห้อง 25°C	

# บทที่ 1 บทนำ

## 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ไข่ไก่เป็นอาหารที่มีประโยชน์และเป็นแหล่งโปรตีนที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย ไข่ไก่มีจำหน่ายโดยทั่วไป หาซื้อได้ง่ายและมีราคาถูก นอกจากนั้นยังสามารถนำไปปรุงเป็นอาหารได้หลากหลายประเภท ด้วยคุณสมบัติของไข่ไก่ที่กล่าวไปข้างต้น จึงทำให้ไข่ไก่เป็นหนึ่งในสินค้าบริโภคที่เป็นที่ต้องการของผู้บริโภคในไทยและต่างประเทศ จากข้อมูลปริมาณการบริโภคไข่ไก่ของคนไทยพบว่าในปี พ.ศ.2556 ถึงปี พ.ศ.2561 คนไทยบริโภคไข่ไก่ทั้งหมดเกือบ 20,000 ล้านฟองต่อปี และโดยเฉลี่ยของจำนวนไข่ไก่ที่บริโภคต่อคนต่อปี คือ 300 ฟอง นอกจากนั้นอัตราการบริโภคไข่ไก่ของคนไทยมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในทุกปี ดังแสดงในรูปที่ 1.1



รูปที่ 1.1 อัตราการบริโภคไข่ไก่ของคนไทย ในปี พ.ศ.2556 ถึงปี พ.ศ.2561<sup>(1)</sup>

จากอัตราการบริโภคไข่ไก่ที่เพิ่มขึ้นของคนไทยนั้นส่งผลกระทบต่อภาคอุตสาหกรรมการผลิตไข่ไก่ ซึ่งจำเป็นต้องมีการปรับตัวเพื่อขยายอัตราการผลิตอย่างต่อเนื่องเพื่อให้เพียงพอต่อความต้องการของผู้บริโภค ด้วยกำลังการผลิตของภาคอุตสาหกรรมที่เพิ่มขึ้นนั้นส่งผลให้ต้องมีการบรรจุภัณฑ์ ขนส่ง เก็บเข้าคลัง แล้วจึงนำมาวางขายตามตลาด ห้างสรรพสินค้า หรือซูเปอร์มาร์เก็ต ด้วยเหตุนี้ไข่ไก่ที่วางขายอาจไม่ได้เป็นไข่ไก่ที่สดอย่างที่ควรจะเป็น ดังนั้นการตรวจสอบคุณภาพและความสดของไข่ไก่จึงมีความจำเป็นและเป็นขั้นตอนที่สำคัญในการควบคุมคุณภาพของไข่ไก่ ความสดของไข่ไก่เป็นปัจจัยหลักที่ส่งผลต่อระดับคุณค่าสารอาหารทางโภชนาการภายในฟองไข่ ปัจจุบันมีวิธีมาตรฐานในการตรวจสอบความสดของไข่ไก่ โดยการวัดค่าความสูงของไข่ขาวบริเวณรอบๆ ไข่แดงเพื่อที่จะไปคำนวณหาค่าหน่วยออก แต่วิธีการดังกล่าวจำเป็นต้องตอกไข่เพื่อทำการวัด ซึ่งในทางปฏิบัติไม่สามารถใช้วิธีดังกล่าวในการตรวจความสดของไข่ไก่ได้อย่างทั่วถึง เนื่องจากเป็นการตรวจวัดที่ทำลายตัวอย่าง

ปัจจุบันเทคนิค Near-Infrared Spectroscopy (NIRS) เป็นวิธีการที่นิยมในอุตสาหกรรมขนาดใหญ่ เนื่องจากเป็นวิธีที่ไม่ทำลายตัวอย่าง ไม่ใช้สารเคมีในการวิเคราะห์ ปลอดภัยต่อผู้ใช้งาน และเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม การวิเคราะห์โดยเทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโกปีนั้นใช้หลักการการดูดกลืนแสงของตัวอย่างในช่วงความยาวคลื่น 700-2500 นาโนเมตร ซึ่งแสงที่ดูดกลืนเข้าไปนั้นจะกระตุ้นหมู่ฟังก์ชันในโมเลกุลให้เกิดการสั่นทั้งการยืดหด (stretching) และการเปลี่ยนมุม (bending) โดยสเปกตรัมที่ได้จะเกิดจากสัญญาณของหลายๆ หมู่ฟังก์ชันรวมกันซึ่งเกิดขึ้นเป็นแบบ overtone สเปกตรัมที่ได้เป็นรูปแบบเฉพาะของสารแต่ละตัว และนอกจากนี้ปริมาณก็ยังเป็นสัดส่วนกับปริมาณแสงที่ถูกดูดกลืนอีกด้วย จึงทำให้เทคนิค NIRS สามารถใช้วิเคราะห์ได้ทั้งเชิงคุณภาพ (Qualitative analysis) และเชิงปริมาณ (Quantitative analysis)

ดังนั้นงานวิจัยนี้สนใจที่จะประยุกต์ใช้เทคนิค Near-infrared diffuse reflection mode และเทคนิคทางสถิติ Chemometrics มาใช้ในการทำนายค่าหน่วยฮอกของไข่ไก่ โดยจะศึกษาผลกระทบของตำแหน่งในการวัดสัญญาณ NIR สเปกตรัม จำนวนวันที่เก็บไข่ไก่ (0-28 วัน) และอุณหภูมิที่ใช้ในการเก็บไข่ไก่ ( $4^{\circ}\text{C}$  และ  $25^{\circ}\text{C}$ ) ไข่ไก่ที่ใช้ในการวิจัยนี้นั้นได้รับความอนุเคราะห์จากฟาร์มของบริษัท เจริญโภคภัณฑ์อาหาร จำกัด (มหาชน)

## 1.2. งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ที่ผ่านมามีผู้วิจัยหลายท่านได้ประยุกต์ใช้ NIRS ใช้ในการตรวจวัดอาหารหลายชนิด ซึ่งรวมถึงการใช้ NIRS ในการวัดความสดของไข่ไก่ ดังนี้

Hao Lin และคณะ<sup>(2)</sup> ได้ทำการวัดไข่ไก่ด้วยเทคนิค Near-Infrared Spectroscopy (NIRS) เพื่อวิเคราะห์ความสดของไข่และใช้เทคนิค Artificial neural network combined with genetic algorithms (GA-ANN) ซึ่งได้ค่า root mean square error of prediction (RMSEP) ที่ดีที่สุดที่ได้จาก GA-ANN สำหรับหน่วยฮอกเท่ากับ 2.443 และค่า regression coefficient (R) เท่ากับ 0.879

Alessandro Giunchi และคณะ<sup>(3)</sup> ได้ทำการวัดเปลือกไข่ด้วยเทคนิค Near-Infrared Spectroscopy (NIRS) เพื่อประเมินความสดของไข่ด้วย PLS-DA (partial least square discriminant analysis) แบบจำลองทางคณิตศาสตร์ของแต่ละจุดของเปลือกไข่ที่วัดและแต่ละวิธีเลี้ยงแสดงให้เห็นว่าสามารถแยกไข่ที่เก็บในแต่ละวันออกจากกันได้โดยรวมในอัตรา 100% และจากค่า Average standard errors of prediction (SEP) ที่ได้จาก partial least square regression (PLS) สำหรับความสูงของอาบูมิน (thick albumen height) หน่วยฮอกและความสูงของ แอร์เซลล์ (air cell height) เท่ากับ 0.9 mm 9.1 unit และ 0.5 mm ตามลำดับ และได้ค่า coefficient of determination ( $R^2$ ) เท่ากับ 0.789 0.676 และ 0.722 ตามลำดับ

Jiewen Zhao และคณะ<sup>(4)</sup> ได้ใช้ Near-Infrared Spectroscopy (NIRS) กับเทคนิค support vector data description (SVDD) ใช้ในการตรวจหาไข่ที่ไม่สด โดยเทคนิค SVDD มีประสิทธิภาพในการวิเคราะห์ความสดและไม่สดของไข่ไก่ได้ดีโดยมีอัตราในการแยกระหว่างไข่ไก่สดกับไข่ไก่ไม่สดเท่ากับ 93.3 %

Julian และคณะ<sup>(5)</sup> ได้ใช้ low-cost near-infrared reflectance (NIR) spectrometer ในการทำนายจำนวนวันที่เก็บไข่ไก่ ที่ถูกเก็บในอุณหภูมิห้อง ( $23 \pm 1^{\circ}\text{C}$ ) โดยโมเดลที่ดีที่สุดได้จากการทำ Savitzky Golay pre-processing technique กับการทำอนุพันธ์อันดับที่ 3 และ artificial neural network (ANN) โดยใช้จำนวนนิวรอนในแต่ละชั้นซ่อน (Hidden Layer) เท่ากับสิบ โดยได้ค่า coefficient of determination ( $R^2$ )

เท่ากับ  $0.8319 \pm 0.0377$  และได้ค่า root mean squared error ของ test set ในการทำ cross-validation เท่ากับ 1.97 วัน

ซึ่งในงานวิจัยนี้สร้างสมการทางคณิตศาสตร์ในการทำนายค่าหน่วยฮอกจาก NIR สเปกตรัม โดยวิธีการทางเคโมเมทริกซ์ และจะทำการศึกษาผลของผลกระทบของตำแหน่งที่ทำการวัดเนียร์อินฟราเรดสเปกตรัมต่อประสิทธิภาพการทำนายค่าหน่วยฮอกของสมการทางคณิตศาสตร์ที่สร้างขึ้น อย่างไรก็ตามในงานวิจัยที่ผ่านมา นั้น ยังไม่ผู้วิจัยศึกษาผลกระทบของตำแหน่งการวัดไซโก่ อุณหภูมิการเก็บรักษาไซโก่ ที่มีผลต่อความสดของไซโก่ ผู้วิจัยจึงสนใจที่จะสร้างแบบจำลองทางคณิตศาสตร์เพื่อใช้ในการทำนายความสดของไซโก่ (Haugh unit) และศึกษาผลกระทบจากตำแหน่งการวัด และอุณหภูมิการเก็บที่มีต่อความสดของไซโก่ได้

### 1.3. วัตถุประสงค์และขอบเขตของการวิจัย

- 1) สร้างสมการทางคณิตศาสตร์ในการทำนายค่าหน่วยฮอก (Haugh unit) จาก NIR spectrum โดยวิธีการทางเคโมเมทริกซ์
- 2) ศึกษาผลกระทบของตำแหน่งที่ทำการวัดเนียร์อินฟราเรดสเปกตรัมและอุณหภูมิในการเก็บรักษาต่อประสิทธิภาพการทำนายค่าหน่วยฮอก (Haugh unit) ของสมการทางคณิตศาสตร์ที่สร้างขึ้น

### 1.4. ขอบเขตของการวิจัย

ศึกษาการตรวจวัดความสดของไซโก่โดยพิจารณาจากค่าหน่วยฮอกจากฟาร์มของบริษัท เจริญโภคภัณฑ์อาหาร จำกัด (มหาชน) ที่ถูกเก็บในตู้เย็น ( $4^{\circ}\text{C}$ ) และที่อุณหภูมิห้อง ( $25^{\circ}\text{C}$ ) ด้วยเทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปี โดยใช้เทคนิคเคโมเมทริกซ์ (chemometrics) เพื่อสร้างแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ในการทำนายความสดของไซโก่ด้วยวิธีกำลังสองน้อยที่สุดบางส่วน (partial least squares) นอกจากนี้ศึกษาผลกระทบของตำแหน่งที่ทำการวัดเนียร์อินฟราเรดสเปกตรัมและอุณหภูมิในการเก็บรักษาไซโก่ ต่อประสิทธิภาพการทำนายความสดของไซโก่จากแบบจำลองทางคณิตศาสตร์

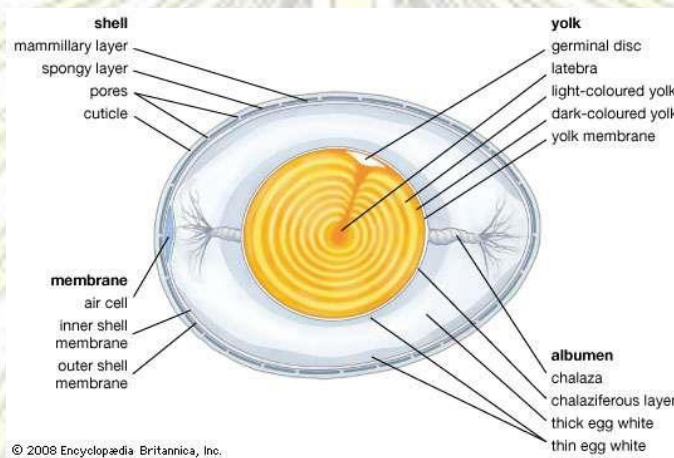
### 1.5. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

สมการสอบเทียบที่สร้างด้วยเทคนิคทางเคโมเมทริกซ์ (chemometrics) ที่จะช่วยในการวิเคราะห์หน่วยฮอกของไซโก่จากข้อมูลเนียร์อินฟราเรดสเปกตรัมที่มีความถูกต้องและแม่นยำสูง

## บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

### 2.1. ไข่ไก่

ไข่ไก่เป็นสินค้าบริโภคที่นิยมบริโภคในทุกครัวเรือน เพราะซื้อหาได้ง่าย ราคาไม่แพง สามารถนำไปประกอบอาหารได้หลากหลายเมนู และที่สำคัญคือไข่ไก่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง เนื่องจากไข่ไก่เป็นแหล่งโปรตีนสมบูรณ์ (complete Protein) คือมีกรดอะมิโนที่จำเป็น (essential amino acids) อยู่ครบถ้วนในปริมาณที่พอเหมาะ มีกรดอะมิโนพวกซัลเฟอร์อยู่สูงทั้งในไข่ขาวและไข่แดงซึ่งเป็นประโยชน์ในการสร้างเซลล์ผิวหนัง เล็บและผม นอกจากนี้ยังมีส่วนประกอบของวิตามินเอ, ดี, อี, เค, บี 16, บี 12, โฟเลต และแร่ธาตุต่างๆ โดยเฉพาะ ไบโอฟลาวิน, ฟอสฟอรัส และเหล็ก ที่ช่วยให้ร่างกายสามารถสร้างเม็ดเลือดได้มากขึ้น โดยไข่ไก่สามารถแบ่งได้เป็น 4 ส่วนหลักๆ ดังรูปที่ 2.1



รูปที่ 2.1 แสดงส่วนประกอบของไข่ไก่

1). ไข่แดง (yolk) เป็นส่วนที่เป็นสีเหลืองในไข่แดงประกอบไปด้วยวิตามินที่ละลายได้ในไขมัน ได้แก่ วิตามินเอ ดี และอี รวมทั้งโคลีน ลูทีนและซีแซนทีน ส่วนแร่ธาตุที่พบมากในไข่แดง ได้แก่ ฟอสฟอรัส เหล็ก และโฟเลต โดยไข่แดงจะประกอบด้วย จุดกำเนิด (germinal disc or blastoderm) เป็นส่วนที่สามารถเจริญเป็นตัวอ่อนเมื่อได้รับการผสม ท่อน้ำไข่ (latebra) เป็นทางที่ลำเลียงอาหารจากไข่แดงไปสู่ตัวอ่อนและเป็นส่วนที่ต่อกับจุดกำเนิดถึงตรงกลางของไข่แดง ชั้นไข่แดงสีเข้มและชั้นไข่แดงสีจางเป็นส่วนที่เกิดจากการผสมเม็ดสีที่ผสมในอาหาร เยื่อหุ้มไข่แดง (yolk or vitelline membrane) ทำหน้าที่หุ้มไข่แดงเอาไว้

2). ไข่ขาว (albumin) มีลักษณะเป็นวุ้นสีขาวขุ่นรอบไข่แดง เป็นของเหลวหลักของเนื้อไข่ (ประมาณ 67%) ในไข่ขาวมีองค์ประกอบที่เป็นโปรตีนมากกว่าครึ่งของโปรตีนรวมในไข่ มีไนอะซิน ไบโอฟลาวิน โคลีน แมกนีเซียม โพแทสเซียม โซเดียม และซัลเฟอร์ ลักษณะของไข่ขาวก็สามารถบอกอายุไข่ได้เช่นเดียวกัน เพราะเมื่อไข่มีอายุมากขึ้น โปรตีนในไข่ขาวเกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้าง ทำให้เนื้อไข่ขาวเหลวขึ้น จึงทำให้ไข่แดงแบนราบลงด้วยเพราะไข่ขาวไม่สามารถโอบอุ้มไว้ได้ โดยไข่ขาวจะประกอบด้วย ไข่ขาวชั้น (chalaziferous) เป็นส่วนที่อยู่ใกล้ติดกับไข่แดง ขั้วยึดไข่แดง (chalazae) มีลักษณะเป็นเส้นเกลียวยื่นออกมาทางด้านข้างทำให้ไข่แดงไม่เคลื่อนที่ ไข่ขาวส่วนใส (thin egg white) ไข่ขาวส่วนข้น (thick egg white)

3). เยื่อหุ้มเปลือกไข่ (membrane) เยื่อ 2 ชั้นประกอบด้วยเยื่อชั้นใน (inner shell membrane) เยื่อชั้นนอก (outer shell membrane) มีช่องอากาศเป็นตัวแยก (air cell)

4). เปลือกไข่ (shell) มีส่วนประกอบที่สำคัญ คือ คอลลาเจน (collagen) สานเป็นตัวตาข่าย และมีหินปูน (แคลเซียมคาร์บอเนต) ทำให้เปลือกแข็ง เปลือกไข่จะมีรูขนาดเล็กมาก (pore) มองด้วยตาเปล่าไม่เห็น เมื่อไข่ออกจากแม่ไก่มาใหม่ จะมีเมือกเคลือบที่ผิวของเปลือกไข่ (cuticle) เพื่อป้องกันไม่ให้อากาศและน้ำผ่านเข้าไปได้ เปลือกไข่ในช่วงแรกจึงมีลักษณะเรียบเนียน เมื่อเก็บไว้นานๆ เมือกเหล่านี้จะแห้งไป อากาศและความชื้นสามารถแทรกผ่านรูเล็กที่เปลือกไข่ได้ทำให้ไข่จะเสื่อมคุณภาพ การเปลี่ยนแปลงของไข่ขาวและการเปลี่ยนของกลิ่นรสตลอดเวลา เนื่องจากการสูญเสีย น้ำ การสูญเสียก๊าซ เปลือกไข่มีการป้องกันการเน่าเสียจากจุลินทรีย์ เมื่อไม่มีเปลือกไข่ จะเกิดการเสื่อมเสียอย่างรวดเร็ว จึงมักเก็บไข่ทั้งเปลือก

## 2.2. การเปลี่ยนแปลงของไข่ไก่ในระหว่างการเก็บรักษา

หลังจากที่แม่ไก่วางไข่แล้วคุณภาพของไข่ไก่จะลดลงอย่างต่อเนื่อง เนื่องจากไข่ไก่เมื่อมีอายุมากขึ้นจะมีการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้นในไข่ไก่ซึ่งส่งผลทำให้คุณภาพของไข่ไก่ลดลง การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นของไข่ไก่นี้มีดังนี้

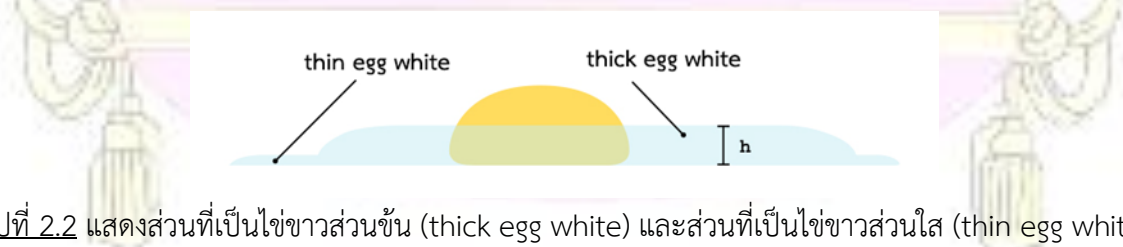
1). การขยายตัวขึ้นของไข่แดง เนื่องจากเมื่ออายุของไข่มากขึ้นเยื่อหุ้มไข่แดง (yolk membrane) บางลงทำให้น้ำสามารถผ่านเยื่อหุ้มไข่ได้แดง และเนื่องจากน้ำในไข่ขาวมีปริมาณมากกว่าในไข่แดงจึงทำให้น้ำในไข่ขาวเคลื่อนที่เข้าไปยังไข่แดงจึงทำให้ไข่แดงมีขนาดใหญ่ขึ้น

2). การลดลงของไข่ขาวส่วนชั้น ในตอนแรกไข่ขาวส่วนชั้น (thick egg white) เป็นโปรตีนที่มีขนาดใหญ่และเมื่อเวลาผ่านไปเอนไซม์ในไข่จะย่อยโปรตีนให้มีขนาดของโมเลกุลเล็กลง ทำให้ไข่ขาวส่วนชั้นกลายเป็นไข่ขาวส่วนใส (thin egg white)

3). การเพิ่มขึ้นของ pH เมื่อไข่ไก่ถูกเก็บนานขึ้น ไข่ไก่จะสูญเสียแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ ทำให้ความเป็นกรดในไข่ลดลงจึงส่งผลให้ pH ของไข่ไก่เพิ่มขึ้นเมื่อถูกเก็บไว้นานขึ้น

## 2.3. หน่วยฮอก (haugh unit)

เป็นหน่วยวัดที่บอกถึงคุณภาพของไข่ซึ่งถูกเสนอโดย Dr. Raymond Haugh ในปี ค.ศ. 1937 ค่าหน่วยฮอก (haugh unit) จะมีความสัมพันธ์กับสดของไข่ไก่โดยดูจากลักษณะ น้ำหนักของไข่และความสูงของไข่ขาวส่วนชั้น (Thick egg white) ดังรูปที่ 2.2



รูปที่ 2.2 แสดงส่วนที่เป็นไข่ขาวส่วนชั้น (thick egg white) และส่วนที่เป็นไข่ขาวส่วนใส (thin egg white) เมื่อตอกไข่ลงบนพื้นเรียบ

ไซ้จะถูกตอกลงบนพื้นผิวเรียบและทำการวัด  $h$  ค่าความสูงเฉลี่ยของไซ้ขาวส่วนชั้น  $w$  น้ำหนักของไซ้โก้ และน้ำ ไปคำนวณค่าหน่วยฮอก (Haugh unit) ดังสมการ

$$HU = 100 \times \log(h - 1.7w^{0.37} + 7.6)$$

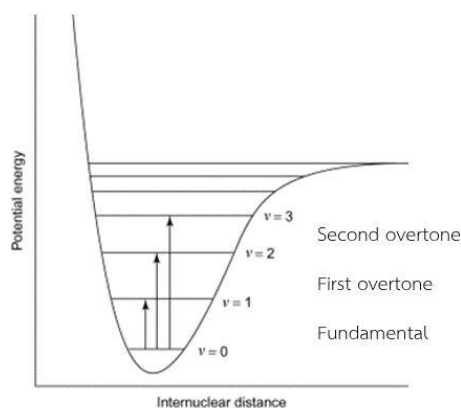
เมื่อ HU คือหน่วยฮอก  $h$  คือ ความสูงเฉลี่ยของไซ้ขาวส่วนชั้น และ  $w$  คือ น้ำหนักของไซ้โก้

โดยค่าหน่วยฮอกนั้นจะมีค่ามาตรฐานตามที่กระทรวงเกษตรสหรัฐอเมริกา USDA ได้กำหนดโดยจะแบ่งค่าหน่วยฮอกเป็นช่วงระดับทั้งหมด 4 ระดับดังนี้

1. เกรดดับเบิลเอ (AA) ค่าหน่วยฮอกอยู่ในช่วงระหว่าง 72-100
2. เกรดเอ (A) ค่าหน่วยฮอกอยู่ในช่วงระหว่าง 60-71.9
3. เกรดบี (B) ค่าหน่วยฮอกอยู่ในช่วงระหว่าง 31-59.9
4. เกรดซี (C) ค่าหน่วยฮอกอยู่ในช่วงระหว่าง 1-30.9

#### 2.4. เนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปี

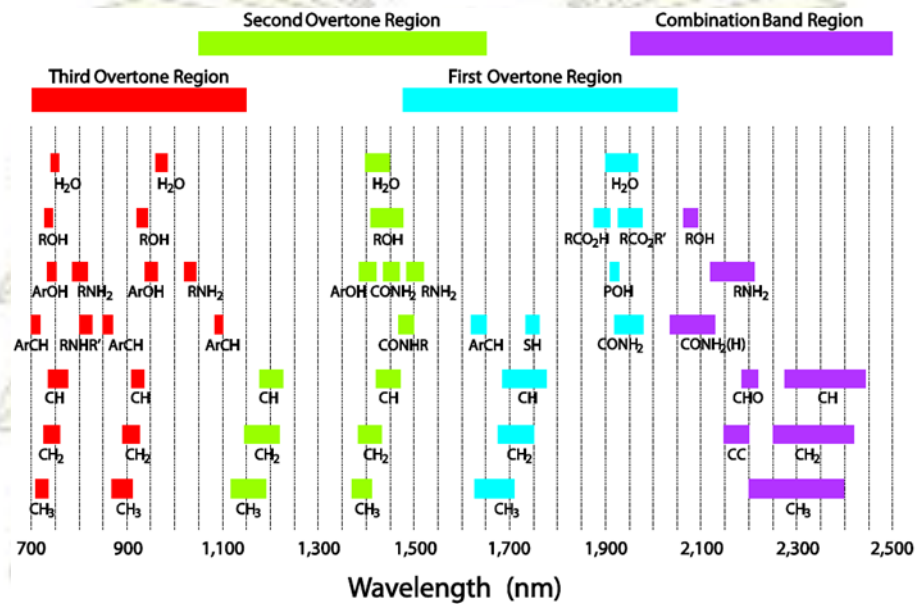
เนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปี (Near-Infrared Spectroscopy, NIRS) เป็นเทคนิคที่ใช้หลักการการเกิดอันตรกิริยา (interaction) ของคลื่นเนียร์อินฟราเรด (ความยาวคลื่นระหว่าง 700-2500 nm) กับหมู่ฟังก์ชันของวัสดุ ทำให้หมู่ฟังก์ชันนั้นๆ ดูดซับคลื่นและเกิดการสั่นของหมู่ฟังก์ชันในโมเลกุล (molecular vibrations) โดยอิเล็กตรอนถูกกระตุ้นจากระดับพลังงานของการสั่นในโมเลกุลที่สภาวะพื้น (ground state) ไปยังระดับพลังงานที่สูงขึ้น ซึ่งอิเล็กตรอนสามารถเปลี่ยนแปลงระดับชั้นพลังงานของการสั่นโดยมีการเปลี่ยนแปลงเลขควอนตัม (vibration quantum number) มากกว่า 1 ได้ หรือที่เรียกว่า “Overtone” โดยแสดงการเปลี่ยนชั้นระดับพลังงาน (energy level) ไว้ในรูปที่ 2.3



รูปที่ 2.3 แสดงการเปลี่ยนแปลงระดับพลังงานของอิเล็กตรอนเมื่อถูกกระตุ้นด้วยแสงเนียร์อินฟราเรด



แถบการดูดกลืนแสงที่เป็นโอเวอร์โทน (overtone band) และคอมบินชัน (combination bands) ของสาร นั้นมีลักษณะเป็นรูปแบบ (pattern) ทำให้สเปกตรัมของสารหรือโมเลกุลแต่ละชนิดมีลักษณะเฉพาะตัว แถบ การดูดกลืนแสงที่เกิดจากแสง NIR จะขึ้นกับชนิดของพันธะของหมู่ฟังก์ชันและหมู่ข้างเคียง (neighboring group) ที่มีอยู่ในระบบ ดังแสดงในรูปที่ 2.4



รูปที่ 2.4 แสดงแถบการดูดกลืนแสงของพันธะของหมู่ฟังก์ชันและหมู่ข้างเคียง (neighboring group) ในช่วง ความยาวคลื่น 700 nm ถึง 2500 nm

ข้อดีของเนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปีคือเป็นเทคนิคที่ง่าย และมีความรวดเร็วในการวิเคราะห์ มีวิธีเตรียม ตัวอย่างที่ไม่ยุ่งยากและไม่ทำลายตัวอย่างที่จะวิเคราะห์ ดังนั้นสามารถนำตัวอย่างเดิมไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิค อื่นๆ ต่อไปได้ นอกจากนี้ยังเป็นเทคนิคที่สามารถวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของพันธะ C-H, N-H, O-H ได้ เป็นอย่างดี โดยดูจากแถบการดูดกลืนแสง overtone และ combination ซึ่งค่าการดูดกลืนแสงเป็นไปตาม Beer's Law จึงเหมาะสำหรับการวิเคราะห์เชิงคุณภาพ (qualitative analysis) และการวิเคราะห์เชิง ปริมาณ (quantitative analysis)

## 2.5. รูปแบบการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปี

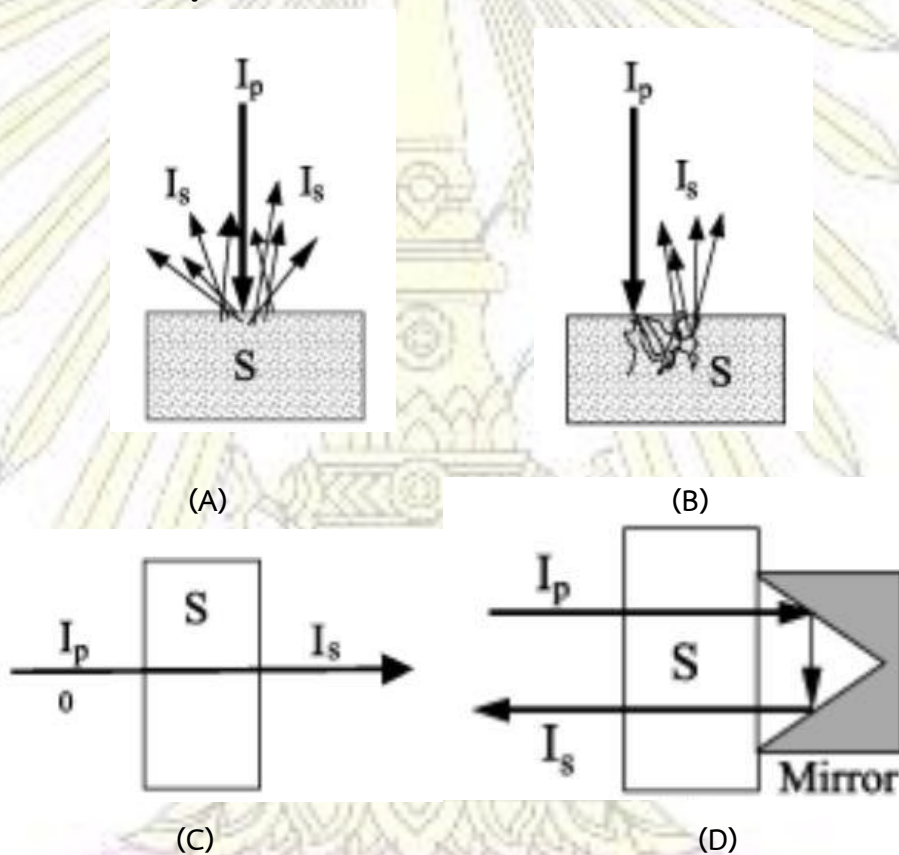
รูปการตรวจวัดด้วยเทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโทรสโกปีนั้นมีหลายรูปแบบ ซึ่งจะมีหลักการในการ วางตำแหน่งของแหล่งกำเนิดแสงและตัวตรวจวัดที่ต่างกันอย่างเล็กน้อย โดยรูปแบบหลักๆ ของการตรวจวัดด้วย เทคนิคเนียร์อินฟราเรดมีดังนี้

- 1). รูปแบบสะท้อน (reflectance) เป็นวิธีที่ง่ายต่อการจัดวางตัวอย่าง เมื่อแสงส่องไปยังวัตถุแล้วแพร่ ลงไปในตัวอย่าง (sample) บางส่วน ทำให้เกิดอันตรกิริยากับหมู่ฟังก์ชันบริเวณพื้นผิวของตัวอย่าง จากนั้นแสง จึงสะท้อนกลับขึ้นมาสู่ตัวตรวจวัด (detector) ในปัจจุบันเนื่องจากมีความสะดวกในการใช้สายไฟเบอร์ออปติก การวัดสะท้อนจากวัตถุจึงเป็นแบบ Interactance ซึ่งมีสายไฟเบอร์ออปติกที่เป็นตัวนำคลื่นที่สะท้อนจากวัตถุ

กลับไปยังตัวตรวจวัด ซึ่งอยู่ใกล้กันเรียกว่า Interactance-Reflectance ได้ ซึ่งรูปแบบสะท้อนนี้เหมาะกับตัวอย่างที่แสงไม่สามารถส่องผ่านได้ เช่น ผลไม้ เนื้อสัตว์ เป็นต้น

2. รูปแบบส่องผ่าน (Transmittance) เป็นวิธีที่นิยมใช้กับของเหลว โดยจะนำตัวอย่างบรรจุอยู่ในคิวเว็ตโดยแสงจะผ่านเข้าไปในตัวอย่างแล้วแสงช่วงเนียร์อินฟราเรดในบางช่วงที่มีความถี่ตรงกับความถี่ของการสั่นของพันธะในโมเลกุลแล้วจะถูกดูดกลืนไป แล้วแสงที่ไม่ถูกดูดกลืนจะผ่านไปไปยังตัวตรวจวัด

3. รูปแบบส่องผ่านสะท้อน (Transflectance) เป็นการส่งคลื่นผ่านตัวอย่าง ซึ่งโดยปกติเป็นของเหลว โดยจะมีหลักการคล้ายกับรูปแบบส่องผ่าน (Transmittance) แต่เทคนิคนี้แสงจะเดินทางผ่านตัวอย่าง 2 ครั้ง โดยเมื่อแสงผ่านตัวอย่างไปแล้วจะถูกสะท้อนกลับผ่านตัวอย่างอีกครั้ง แล้วจึงเดินทางไปยังตัวตรวจวัด

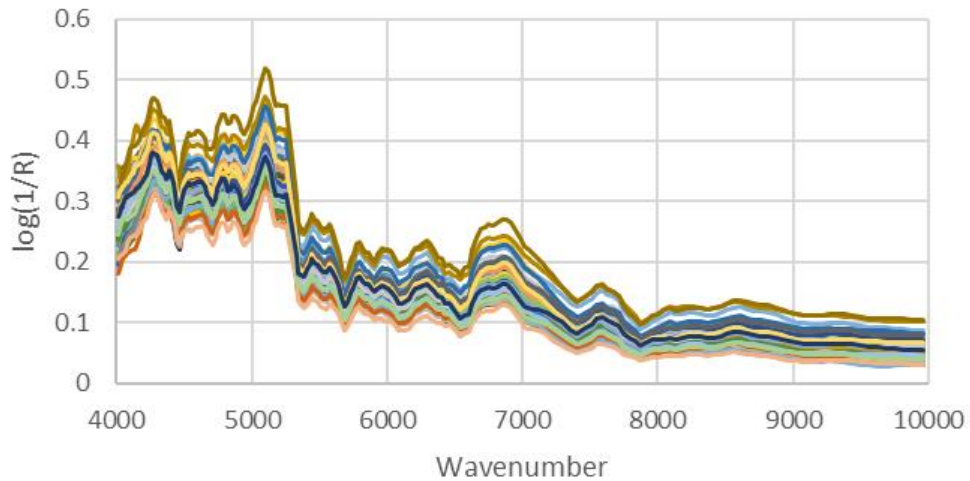


รูปที่ 2.5 แสดงรูปแบบในการวัดของเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรมิเตอร์ในรูปแบบต่างๆ (A) reflectance (B) Interactance (C) Transmittance (D) Transflectance <sup>(7)</sup>

## 2.6. เทคนิคการปรับแต่งข้อมูลก่อนการวิเคราะห์ (data pre-processing techniques)

อิทธิพลของสภาพแวดล้อมต่างๆ และความแปรปรวนของเครื่องมือไม่ว่าจะเป็นส่วนตัวกำเนิดแสง (light source) และตัววัดค่าสัญญาณ (detector) สามารถส่งผลกระทบต่อค่าสเปกตรัมที่ได้จากการตรวจวัด ซึ่งทำให้เกิดการเลื่อนของฐานสเปกตรัม (baseline shift) ดังแสดงในรูปที่ 2.6 โดยเมื่อนำสเปกตรัมเหล่านี้มาทำการวิเคราะห์โดยเฉพาะในเชิงปริมาณวิเคราะห์จะทำให้เกิดความคลาดเคลื่อน (errors) ได้ เพื่อเป็นการลดความ

คลาดเคลื่อนจากการเลื่อนฐานของสเปกตรัม (baseline shift) ให้น้อยลง จึงจำเป็นต้องมีการปรับสเกลข้อมูล ก่อนการวิเคราะห์โดยวิธีการทางคณิตศาสตร์



รูปที่ 2.6 การเลื่อนฐานของสเปกตรัม (baseline shift) ของเนียร์อินฟราเรดสเปกตรัมของไข่ไก่

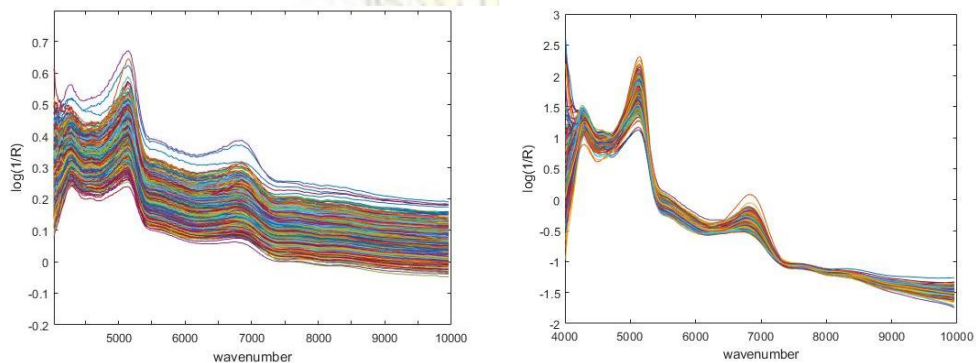
### 2.6.1. standard normal variate (SNV)

เป็นอีกเทคนิคหนึ่งที่นิยมใช้กับเนียร์อินฟราเรดสเปกตรัม เพื่อใช้ลดการกระจาย (scatter) และลดผลกระทบจากการเลื่อนฐานของสเปกตรัม เทคนิค SNV จะเริ่มจากการคำนวณค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของจุดข้อมูลทั้งหมดสำหรับสเปกตรัมนั้นๆ โดยค่าเฉลี่ยจะถูกหักออกจากค่าการดูดกลืนแสงสำหรับทุกจุดข้อมูลและหารด้วยค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน โดยสามารถเขียนได้ดังสมการ เทคนิค SNV จะทำให้สเปกตรัมจนครบทุกสเปกตรัมในฐานข้อมูล

$$A_{ij}(\text{snv}) = \frac{A_{ij} - \bar{X}_1}{SDev}$$

- เมื่อ  $i$  คือ ลำดับของสเปกตรัม  
 $j$  คือ ลำดับของคาร์รีเฟ็กแทน ในสเปกตรัมลำดับที่  $i$   
 $A_{ij}(\text{snv})$  คือ ค่าของสเปกตรัมที่ผ่านการทำให้ถูกต้องแล้ว  
 $A_{ij}$  คือ ค่าของสเปกตรัมที่วัดได้  
 $\bar{X}_1$  คือ ค่าเฉลี่ยของคาร์รีเฟ็กแทน ในสเปกตรัมลำดับที่  $i$   
 $SDev$  คือ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของคาร์รีเฟ็กแทน ในสเปกตรัมลำดับที่  $i$

ตัวอย่างการปรับแต่งข้อมูลโดย standard normal variate (SNV) ได้แสดงไว้ในรูปที่ 2.7



รูปที่ 2.7 เนียร์อินฟราเรดสเปกตรัมของไข่ไก่ (ซ้าย) ออริจินอล (ขวา) สเปกตรัมหลังจากการทำ SNV แล้ว

## 2.7. เคมีเมทริกซ์

เคมีเมทริกซ์ (chemometrics) คือการใช้ความรู้ทางคณิตศาสตร์และสถิติมาวิเคราะห์หรือแปลผลข้อมูลทางเคมี เช่น ข้อมูลสเปกตรัมทางสเปกโทรสโกปี และข้อมูลทางเคมีวิเคราะห์ เป็นต้น เคมีเมทริกซ์มีบทบาทสำคัญในการวิเคราะห์เนียร์อินฟราเรดสเปกตรัมอย่างมากและใช้กันอย่างแพร่หลายทั้งในการวิเคราะห์เชิงคุณภาพ (qualitative analysis) และเชิงปริมาณ (quantitative analysis) เช่น การวิเคราะห์องค์ประกอบหลัก (principle component analysis) และวิธีกำลังสองน้อยที่สุดบางส่วน (partial least square method) เป็นต้น

### 2.7.1. partial least square (PLS)

กำลังสองน้อยที่สุดบางส่วน (partial least square) หรือ PLS เป็นเทคนิคหนึ่งที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูลหลายตัวแปร (multivariate analysis) โดยจะหาความสัมพันธ์ระหว่างค่าตอบสนอง ( $y$ ) ในงานวิจัยนี้คือค่าหน่วยชอกและสเปกตรัม ( $X$ ) ในที่นี้คือ NIR สเปกตรัมของแต่ละตัวอย่าง (sample) โดยมีความสัมพันธ์กันดังแสดง

$$X = TP + E$$

$$y = Tq + f$$

เมื่อทำการทดลองทั้งหมด  $m$  ตัวอย่าง และมีจำนวนตัวแปร (คือความยาวคลื่น) ทั้งหมดเท่ากับ  $n$  ตัวแปร จะได้เมทริกซ์  $X$  ที่มีมิติเท่ากับ  $m \times n$  มิติ และเมทริกซ์  $y$  ที่มีค่ามิติเท่ากับ  $m \times 1$  เมื่อทำการวิเคราะห์องค์ประกอบหลัก (principle component) ของเมทริกซ์  $X$  โดยสร้างตัวแปรแฝง (latent variable) เท่ากับ  $p$  ตัวแปร จะได้เมทริกซ์  $T$  ที่มีมิติเท่ากับ  $m \times p$  มิติ และ  $P$  ที่มีมิติเท่ากับ  $p \times n$  มิติ ในทำนองเดียวกันเมื่อพิจารณาจากสมการข้างต้นจะได้ว่า เมทริกซ์  $q$  มีมิติเท่ากับ  $p \times 1$  มิติ โดยที่เมทริกซ์  $E$  และ  $f$  เป็นเมทริกซ์ค่าความคลาดเคลื่อน (residual)

$$\begin{array}{c}
 \begin{array}{c} n \\ \boxed{X} \\ m \end{array} = \begin{array}{c} p \\ \boxed{T} \\ m \end{array} \times \begin{array}{c} n \\ \boxed{P} \\ p \end{array} + \begin{array}{c} n \\ \boxed{E} \\ m \end{array} \\
 \\
 \begin{array}{c} \boxed{Y} \\ m \\ 1 \end{array} = \begin{array}{c} \boxed{T} \\ m \\ p \end{array} \times \begin{array}{c} \boxed{q} \\ p \\ 1 \end{array} + \begin{array}{c} \boxed{f} \\ m \\ 1 \end{array}
 \end{array}$$

รูปที่ 2.8 วิธีกำลังสองน้อยที่สุดบางส่วน partial least square หรือ PLS1

สำหรับการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของข้อมูลที่มีหลายตัวแปร จะสามารถเขียนความสัมพันธ์ระหว่างเมทริกซ์  $X$  และ  $y$  ที่อยู่ในรูปของเมทริกซ์ได้ดังนี้ โดย  $b$  เป็นค่าสัมประสิทธิ์ของสมการสอบเทียบที่ได้จากวิธีกำลังสองน้อยที่สุดบางส่วน (PLS coefficients)

$$y = X b + f$$

เมื่อ  $b$  เป็นเมทริกซ์ที่มีมิติเท่ากับ  $n \times 1$  มิติจะสามารถเขียนสมการสอบเทียบ (calibration equation) สำหรับการทำนาย (prediction) ค่า  $y$  ได้ดังนี้ โดยเป็นสมการเชิงเส้นทั้งหมด  $n$  ตัวแปร และ  $b_0$  เป็นค่าคงที่

$$y = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + \dots + b_nX_n$$

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบหลัก (principle component analysis) จะได้ว่า  $T = X W$  เมื่อ  $W$  เป็นสัมประสิทธิ์ของสมการผลรวมเชิงเส้น (linear combination) ที่สกัดเอาความแปรปรวนของข้อมูลเดิมออกมา จากความสัมพันธ์ข้างต้นจะสามารถหาค่าสัมประสิทธิ์ของสมการสอบเทียบ (PLS coefficients) ได้จากเมทริกซ์  $W$  และเมทริกซ์  $q$  ซึ่งสามารถเขียนอยู่ในรูปของสมการได้ดังนี้ เมื่อ  $W$  เป็นเมทริกซ์ที่มีมิติเท่ากับ  $n \times p$  มิติ

$$b = W (P^T W)^{-1} q^T$$

เมื่อใช้วิธีกำลังสองน้อยที่สุดบางส่วน (partial least squares) จะสามารถหาความสัมพันธ์ระหว่างเมทริกซ์  $X$  และ  $Y$  ได้ โดยการวิเคราะห์ข้อมูลหลายตัวแปร (multivariate analysis) สำหรับการวิเคราะห์เชิงปริมาณ (quantitative analysis) สามารถหาด้วยสมการ  $y_{\text{prediction}} = X_{\text{unknown}} b$  จะเห็นได้ว่าเราสามารถหาปริมาณวิเคราะห์ของสารตัวอย่างได้ด้วยการใช้ข้อมูลทั้งสเปกตรัม ไม่ใช่ค่าการดูดกลืนแสงของความยาวคลื่นใด ความยาวคลื่นหนึ่งเท่านั้น ดังนั้นวิธีกำลังสองน้อยที่สุดบางส่วนมีประโยชน์อย่างมากเพื่อการวิเคราะห์และแปลผลข้อมูลเนียร์อินฟราเรดสเปกตรัมได้อย่างถูกต้องและแม่นยำ

## 2.8. ค่าทางสถิติที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัย

### 2.8.1. ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient)

ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์จะใช้สัญลักษณ์  $r$  แทนสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของกลุ่มตัวอย่าง โดยเป็นค่าที่แสดงถึงความสัมพันธ์ระหว่างค่าตอบสนอง ( $Y$ ) ในที่นี้คือค่าหน่วยออกและตัวแปรอิสระ ( $Y_{predict}$ ) คือค่าการทำนายหน่วยออก หากค่าที่คำนวณได้มีค่าเข้าใกล้ 1 หรือมีค่าเท่ากับ 1 หมายความว่า ค่าตอบสนอง ( $Y$ ) และตัวแปรอิสระ ( $Y_{predict}$ ) มีความสัมพันธ์กันมาก แสดงว่าสมการที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรทั้งสองสามารถทำนายค่าที่ต้องการวิเคราะห์ได้อย่างถูกต้องและแม่นยำ เมื่อนำค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ ( $r$ ) มายกกำลังสอง จะได้ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ ( $R^2$ ) คือค่าที่แสดงอิทธิพลของตัวแปรอิสระ ( $Y_{predict}$ ) ที่มีต่อตัวค่าตอบสนอง ( $Y$ ) ซึ่งเป็นการบอกสัดส่วนที่ตัวแปรอิสระ ( $Y_{predict}$ ) สามารถอธิบายความแปรผัน ของค่าตอบสนอง ( $Y$ ) ได้ หากค่า  $R^2$  มีค่าเข้าใกล้ 1 มากแสดงว่าการทำนายค่าตอบสนอง ( $Y$ ) ค่าที่สอดคล้องกัน

### 2.8.2. root mean square error of prediction (RMSEP)

ค่า root mean square error of prediction เป็นค่าที่บอกถึงความแม่นยำในการใช้สมการสอบเทียบที่สร้างขึ้นมาทำนายความเข้มข้นหรือปริมาณของสารที่ต้องการวิเคราะห์จากเครื่องเนียร์อินฟราเรดสเปกโทรมิเตอร์ หากค่า RMSEP มีค่าต่ำ หมายความว่าสมการสอบเทียบที่สร้างขึ้นมีความแม่นยำสูง โดยการหาค่า RMSEP สามารถหาได้จากสมการดังนี้

$$RMSEP = \sqrt{\frac{\sum_{i=0}^n (y - y_{prediction})^2}{n}}$$

โดยที่  $y$  คือค่าหน่วยออก (Haugh unit) ที่ได้จากการวัด และ  $y_{prediction}$  คือค่าหน่วยออก (Haugh unit) ที่ทำนายได้ โดยที่  $n$  ค่าหน่วยออกที่ทำการทำนาย

### บทที่ 3 วิธีดำเนินงานวิจัย

งานวิจัยเรื่องนี้ศึกษาความสัมพันธ์ของความสดของไข่ไก่จากค่าหน่วยฮอก (haugh unit) ของไข่ไก่ที่ถูกเก็บรักษาไว้ในตู้เย็น (4°C) และเก็บรักษาไว้ในอุณหภูมิห้อง (25°C) กับสมการสอบเทียบ (calibration equation) ด้วยวิธีกำลังสองน้อยที่สุดบางส่วน (partial least square) ของข้อมูลที่ได้จากเทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโกปี (near-infrared spectroscopy) เพื่อใช้ทำนายความสดไข่ไก่และจำนวนวันที่ไข่ไก่ถูกเก็บรักษา โดยการดำเนินการวิจัยทั้งหมดมีดังนี้

#### 3.1. การเก็บรักษาไข่ไก่

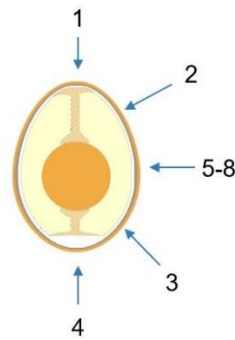
ไข่ไก่ที่ใช้ในการทดลองนี้ได้รับการอนุเคราะห์จาก บริษัท เจริญโภคภัณฑ์อาหาร จำกัด (มหาชน) จำนวนทั้งหมด 240 ฟอง โดยได้ทำการแบ่งไข่ไก่เป็น 2 ส่วน ส่วนละ 120 ฟอง โดยไข่ไก่ส่วนแรกจะถูกเก็บไว้ในตู้เย็นควบคุมอุณหภูมิที่ 4 องศาเซลเซียส และอีกส่วนจะถูกเก็บไว้ในห้องปฏิบัติการวิจัยอุปกรณ์รับรู้ (sensor research unit) ควบคุมอุณหภูมิห้องประมาณ 25 องศาเซลเซียส

#### 3.2. การวัดความสดของไข่ไก่ด้วยหน่วยฮอก (Haugh unit)

ความสดของไข่ไก่จะถูกประเมินจากค่าหน่วยฮอกของไข่ไก่ที่เก็บไว้ในวันที่ 0, 1, 3, 5, 7, 14, 21 และวันที่ 28 โดยจะทำการตอกไข่เพื่อคำนวณค่าหน่วยฮอกครั้งละ 15 ฟอง เริ่มจะวัดน้ำหนัก ( $w$ ) ของไข่ไก่แล้วตอกไข่ไก่ลงบนจานพลาสติกที่มีผิวเรียบ แล้ววัดความสูงของไข่ขาวส่วนชั้นด้วยเวอร์เนีย โดยทำการวัดฟองละ 5 ครั้ง เพื่อนำมาหาค่าเฉลี่ยของความสูงไข่ขาวส่วนชั้น ( $h$ ) จากนั้นคำนวณค่าหน่วยฮอกจากสมการ  $HU = 100 \times \log(h - 1.7w^{0.37} + 7.6)$  เมื่อ  $HU$  คือหน่วยฮอก  $h$  คือ ความสูงเฉลี่ยของไข่ขาวส่วนชั้น และ  $w$  คือน้ำหนักของไข่ไก่ การประเมินความสดของไข่ไก่ด้วยค่าหน่วยฮอก นั้นจะทำหลังจากที่ไข่ไก่อัดกกล่าวผ่านการตรวจวัดด้วยเทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโกปีแล้ว

#### 3.3. การวัดเนียร์อินฟราเรดสเปกตรัมของไข่ไก่

ไข่ไก่ที่ใช้ในการทดลองจะถูกนำมาที่ห้องปฏิบัติการทันทีหลังจากที่แม่ไก่วางไข่แล้วในวันแรก เมื่อไข่ไก่มาถึงห้องปฏิบัติการ ผู้วิจัยจะทำการวัดเนียร์อินฟราเรดสเปกตรัมของไข่ไก่ทันทีด้วยเครื่องเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรมิเตอร์ สเปกตรัมของไข่ไก่ชุดนี้จะถือว่าเป็นข้อมูลของไข่ไก่ที่ถูกเก็บในวันที่ 0 จากนั้น เนียร์อินฟราเรดสเปกตรัมของไข่ไก่จะถูกวัดในวันที่วันที่ 1, 3, 5, 7, 14, 21 และ 28 ตามลำดับ ครั้งละ 15 ฟอง โดยในแต่ละฟองนั้นจะถูกวัดสเปกตรัมในตำแหน่งที่ต่างกันทั้งหมด 8 ตำแหน่ง ดังรูปที่ 3.1 เพื่อหาความสัมพันธ์ของตำแหน่งที่ตรวจวัดต่อประสิทธิภาพที่ใช้ในการทำนายความสดของไข่ไก่ด้วยเทคนิคเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรสโกปี



รูปที่ 3.1 ตำแหน่งในการวัดเนียร์อินฟราเรดสเปกตรัมในไข่แต่ละฟอง

### 3.4. อุปกรณ์ (apparatus)

#### 3.4.1. เนียร์อินฟราเรดสเปกโตรมิเตอร์ (near-infrared spectrometer)

เครื่องเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรมิเตอร์ที่ใช้คือโมเดล NIR256-2.5 จากบริษัท Ocean Optics Inc. โดยเครื่องมือสามารถตรวจวัดได้ในช่วงความยาวคลื่นตั้งแต่ 900 นาโนเมตร ถึง 2500 นาโนเมตร โดยมีช่วงความยาวคลื่นคือ 6.9 นาโนเมตร และมีจำนวนเท่ากับ 256 นาโนเมตร ในการตรวจวัดด้วยเครื่องเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรมิเตอร์จะทำการตั้งค่าพารามิเตอร์ (parameters) ต่างๆ ได้แก่ ระยะเวลาที่เครื่องมือจะทำการเฉลี่ยค่าสัญญาณแล้วจึงแปรผล (integration time) เท่ากับ 100 มิลลิวินาที จำนวนครั้งในการเฉลี่ยสเปกตรัมก่อนแปรผล (scan to average) เท่ากับ 2 และความกว้างของช่วงความยาวคลื่นที่ใช้ในการทำลดสัญญาณรบกวน (Boxcar Smoothing) เท่ากับ 4

##### 3.4.1.1. แหล่งกำเนิดแสง (light source)

แหล่งกำเนิดแสงที่ใช้ในการทดลองจำหน่ายโดยบริษัท Ocean Optics Inc. โดยให้แสงในช่วงวิสิเบิลและเนียร์อินฟราเรด (Vis-NIR) และเป็นหลอดชนิดทังสเตน-ฮาโลเจน (tungsten-halogen lamp) ในการใช้งานจะต้องเชื่อมต่อกับอะแดปเตอร์แปลงไฟ (adapter) และสายใยแก้วนำแสง (fiber optic)

##### 3.4.1.2. สายใยแก้วนำแสงและรีเฟล็กซ์ชั้นโพรพ (fiber optics and reflection probe)

สายใยแก้วนำแสงที่ใช้ในการทดลองจำหน่ายโดยบริษัท Ocean Optics Inc. ทำหน้าที่เป็นตัวกลางให้แสงเคลื่อนที่ผ่านจากแหล่งกำเนิดแสง (light source) แล้วสะท้อนจากไข่ไก่แล้วแสงจะสะท้อนเข้าไปยังรีเฟล็กซ์ชั้นโพรพและไปยังเครื่องตรวจวัด (detector) เส้นใยนำแสงที่ใช้มีเส้นผ่านศูนย์กลาง (diameter) เท่ากับ 600 ไมโครเมตรและความยาวเท่ากับ 2.00 เมตร โดยเส้นใยแก้วนำแสงที่สามารถนำแสงได้ในช่วงวิสิเบิลและเนียร์อินฟราเรด (Vis-NIR) เท่านั้น

##### 3.4.1.3. เครื่องตรวจวัดสัญญาณ (detector)

เครื่องตรวจวัดสัญญาณที่ใช้ในการทดลองจำหน่ายโดยบริษัท Ocean Optics Inc. โดยเป็นเครื่องตรวจวัดสัญญาณชนิดไดโอดอาร์เรย์ (diode array) รุ่น NIRQuest 256 ซึ่งสามารถตรวจวัดการสะท้อนแสงในหลายๆ ค่าความยาวคลื่นทั้งหมด 256 ค่า เหมาะสมกับการวิเคราะห์ข้อมูลสเปกตรัมและสะดวกต่อการติดตาม



การเปลี่ยนแปลงของสเปกตรัมโดยเครื่องตรวจวัดสัญญาณจะเชื่อมต่อกับสายใยแก้วนำแสงและเครื่องคอมพิวเตอร์ซึ่งจะแสดงผลผ่านโปรแกรม SpectraSuite

#### 3.4.1.4. สัญญาณเนียร์อินฟราเรด

ในการวัดเนียร์อินฟราเรดสเปกตรัมจะใช้ diffuse reflectance mode ในการวัด ก่อนที่จะเริ่มวัด ต้องปรับระยะระหว่าง reflectance probe กับตัวอย่างให้เท่ากันทุกครั้งเพื่อลดความคลาดที่เกิดขึ้นจากเครื่องมือ และต้องปรับมาตรฐานการตรวจวัด (calibrate) แบบ dark reference ทำได้โดยการกั้นแสงไม่ให้ยังตัววัดสัญญาณ และ light reference โดยใช้ reflectance standards (PTFE optical diffuser) ซึ่งมีความสามารถในการสะท้อนแสงช่วงเนียร์อินฟราเรดได้มากกว่า 95 เปอร์เซ็นต์<sup>(6)</sup> เนียร์อินฟราเรดสเปกตรัม ที่ได้จะแสดงเป็นค่า reflectance (R) แต่เพื่อให้สอดคล้องกับกฎของ Beer's Law ต้องเปลี่ยนค่า reflectance (R) ให้เป็นค่า absorbance (A) ด้วยสูตร  $A = \log(1/R)$ <sup>(8)</sup>

### 3.5. การจัดการข้อมูลหลังจากทำการตรวจวัดด้วยเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรมิเตอร์

เมื่อทำการวัดตัวอย่าง (sample) ด้วยเครื่องมือเนียร์อินฟราเรดสเปกโตรมิเตอร์แล้วจะได้ข้อมูลของสเปกตรัมซึ่งบันทึกจากโปรแกรม SpectraSuite มาจัดเก็บในโปรแกรม Notepad จากนั้นจึงทำการคัดลอกข้อมูลจากโปรแกรม Notepad มาไว้ในโปรแกรม Microsoft Excel โดยจัดเรียงข้อมูลของแต่ละสเปกตรัมในอยู่ในแนวคอลัมน์ (column) และทำให้ข้อมูลสอดคล้องกับค่าเลขคลื่น (wavenumber) จากนั้นจึงนำข้อมูลเข้าสู่กระบวนการเตรียมข้อมูลก่อนการวิเคราะห์ (data preprocessing) จากนั้นเข้าสู่กระบวนการวิเคราะห์ข้อมูลต่อไป

### 3.6. กระบวนการเตรียมข้อมูลก่อนการวิเคราะห์ (data preprocessing)

ใช้โปรแกรม MATLAB (matrix laboratory) เวอร์ชัน R2018a ในการปรับแต่งข้อมูล โดยทำการสร้างตัวแปรข้อมูล (data) หลังจากนั้นทำการปรับข้อมูลด้วย 2 เทคนิค ได้แก่ 1). Savitzky-Golay smoothing 2). standard normal variate แล้วนำข้อมูลที่ทำการปรับแล้วไปทำการวิเคราะห์ต่อไป

### 3.7. การวิเคราะห์ข้อมูลด้วยโปรแกรมแมตแล็บ (MATLAB)

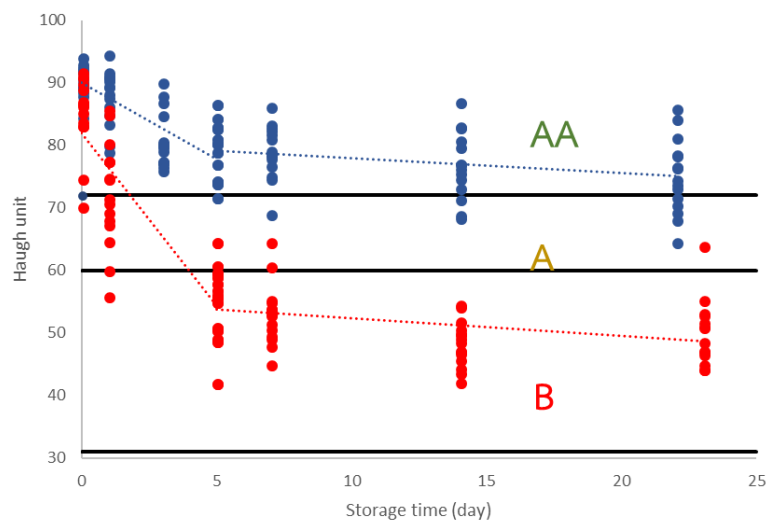
ใช้โปรแกรม MATLAB (matrix laboratory) เวอร์ชัน R2018a ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล โดยทำการสร้างตัวแปรข้อมูล (data) ซึ่งตัวแปรข้อมูลชุดนี้คือข้อมูลที่ผ่านการปรับแต่งแล้ว สร้างตัวแปรค่าเลขคลื่น (wavenumber) แล้วสร้างตัวแปรหน่วยฮอก (Haugh unit) ที่สอดคล้องกับข้อมูลสเปกตรัม (spectrum) ที่ได้จากการวัดและสร้างสมการสอบเทียบทางเคโมเมตริกซ์สำหรับการวิเคราะห์ข้อมูลด้วยสร้างสมการสอบเทียบที่ได้จาก partial least square regression (PLSR) สำหรับการใช้นายค่าหน่วยฮอก และอายุของไซโก่ โดยความถูกต้องและความแม่นยำในการทำนายของสมการสอบเทียบที่สร้างขึ้นจะถูกประเมินด้วยค่าทางสถิติ คือ root mean square error of prediction (RMSEP) และค่า  $R^2$

## บทที่ 4 ผลการวิจัย

### 4.1. ความสัมพันธ์ของหน่วยออกกับระยะเวลาในการเก็บของไซโก

เมื่อทำการวัดค่าหน่วยออก (haugh unit) ของไซโกเทียบกับวันที่ไซโกถูกเก็บในตู้เย็น ( $4^{\circ}\text{C}$ ) ดังแสดงในรูปที่ 4.1 (สีน้ำเงิน) และในอุณหภูมิห้อง ( $25^{\circ}\text{C}$ ) ดังแสดงในรูปที่ 4.1 (สีแดง) จะเห็นว่าเมื่อเวลาในการเก็บมากขึ้นค่าหน่วยออกจะลดลง โดยค่าหน่วยออกของไซโกที่เก็บที่อุณหภูมิ  $4^{\circ}\text{C}$  จะมีอัตราการลดลงที่ช้ากว่าไซโกที่เก็บที่อุณหภูมิ  $25^{\circ}\text{C}$  ค่าหน่วยออกของไซโกที่เก็บที่  $4^{\circ}\text{C}$  และ  $25^{\circ}\text{C}$  มีแนวโน้มในการเปลี่ยนแปลงเหมือนกันในช่วง 5 วันแรก คือมีค่าลดลงอย่างรวดเร็วและหลังจากวันที่ 5 ไปแล้วอัตราการลดลงของค่าหน่วยออกจะเปลี่ยนแปลงน้อยลง เนื่องจากในช่วง 5 วันแรกเอนไซม์ทริปซิน<sup>(9)</sup> ที่ทำหน้าที่ย่อยโปรตีนในไข่ขาวให้มีขนาดเล็กยังทำงานได้ดี หลังจากวันที่ 5 ไปแล้วเอนไซม์ทริปซินจะเสื่อมสภาพลงจึงทำให้ความสามารถในการย่อยโปรตีนลดลง จึงส่งผลให้อัตราการลดลงของค่าหน่วยออกลดลงไปด้วยหลังจากเก็บไข่ไว้ 5 วัน โดยการลดลงของค่าหน่วยออกหลังจากเก็บไซโกไว้ 5 วันจะเป็นการลดลงเนื่องจากการเพิ่มขึ้นของอากาศในไซโก (air gap) ซึ่งเกิดจากการแพร่ผ่านของอากาศและน้ำที่เข้าไปในไซโกเนื่องจากสารเคลือบผิวเปลือกไซโกนั้นเสื่อมสภาพ<sup>(10)</sup>

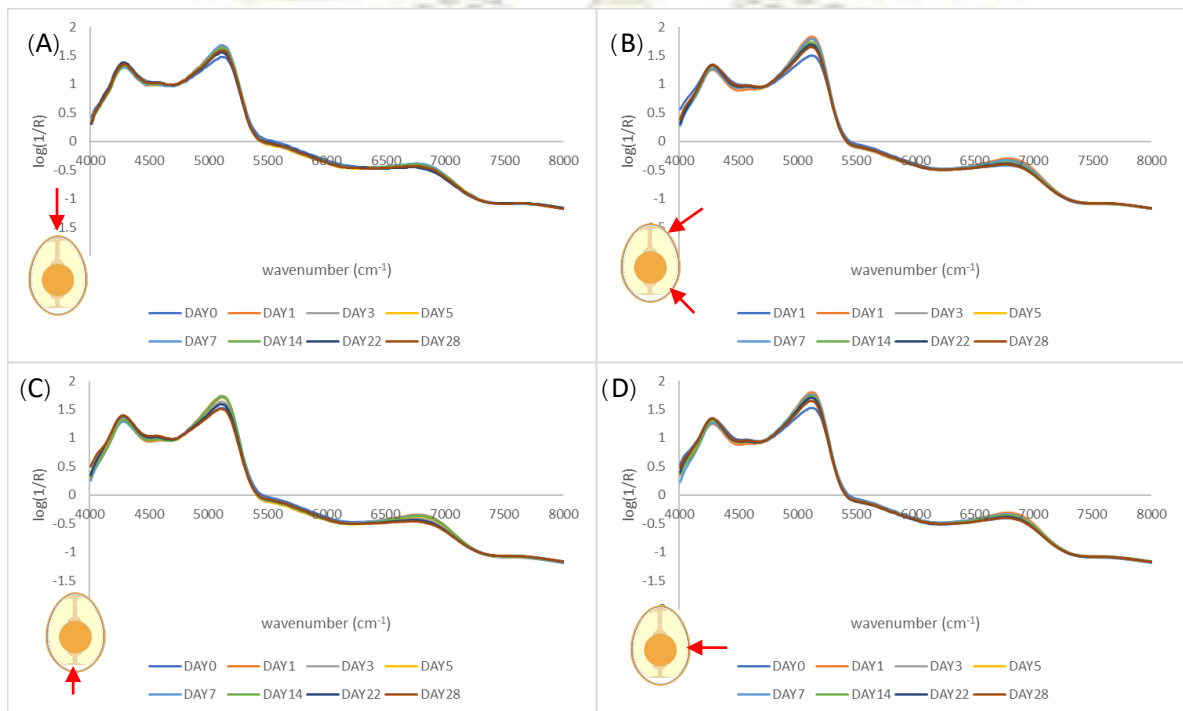
เมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงเกรดของไซโก ที่คิดจากค่าหน่วยออกตามเกณฑ์ของ USDA พบว่าไซโกที่เก็บที่อุณหภูมิ  $4^{\circ}\text{C}$  โดยเฉลี่ยแล้วไซโกจะถูกจัดอยู่ในเกรด AA (หน่วยออกมากกว่า 72) แม้จะเก็บไว้เป็นเวลา 21 วันแล้วก็ตาม อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาไซโกที่เก็บที่อุณหภูมิ  $25^{\circ}\text{C}$  ในวันแรก พบว่าเมื่อเก็บไซโกไว้ 1 วันเกรดของไซโกจะมีความแปรปรวนอยู่ในช่วงเกรด B ถึง AA และไซโกส่วนใหญ่จะอยู่ในเกรด B หลังจากเก็บไว้เป็นเวลา 5 วัน เมื่อดูจากการเปลี่ยนแปลงเกรดที่คิดจากค่าหน่วยออกในไซโก จะเห็นได้ว่าไซโกที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องมีเกรดลดลงอย่างรวดเร็วเมื่อเทียบกับไซโกที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ  $4^{\circ}\text{C}$  อาจเกิดจากที่อุณหภูมิ  $25^{\circ}\text{C}$  เป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ทริปซินจึงทำให้เกิดการย่อยโปรตีนอย่างรวดเร็ว<sup>(11)</sup>



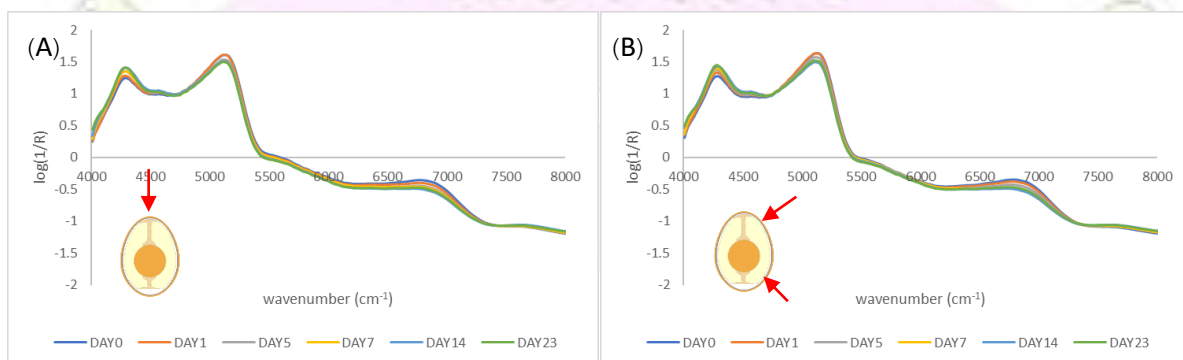
รูปที่ 4.1 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างหน่วยออก (haugh unit) และวันที่ไซโกถูกเก็บ (สีน้ำเงิน) ในตู้เย็น ( $4^{\circ}\text{C}$ ) (สีแดง) ที่อุณหภูมิห้อง ( $25^{\circ}\text{C}$ )

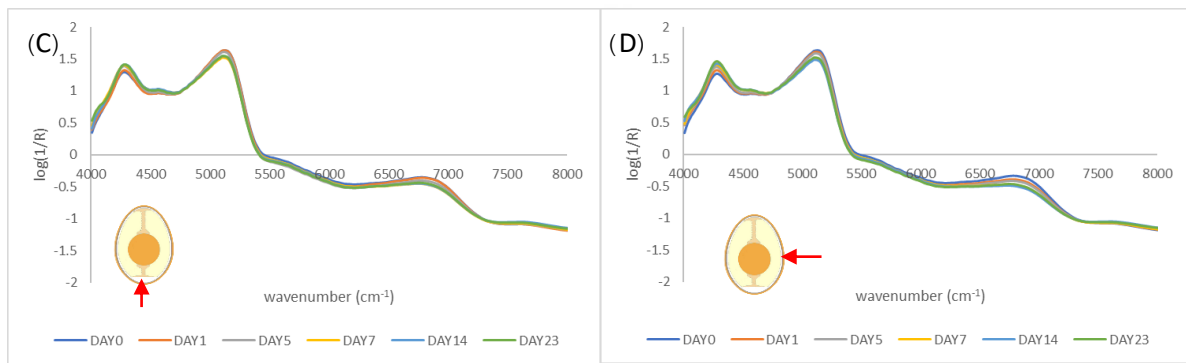
#### 4.2. เนียร์อินฟราเรดสเปกตรัมของไข่ไก่

เนียร์อินฟราเรดสเปกตรัมของไข่ไก่ได้ถูกบันทึกตามระยะเวลาที่ไข่ไก่ถูกเก็บในช่วงความยาวคลื่น  $4,000-10,000\text{ cm}^{-1}$  และในไข่ไก่แต่ละฟองจะทำการเก็บข้อมูลเนียร์อินฟราเรดสเปกตรัมทั้งหมด 8 ตำแหน่ง แบ่ง 4 กลุ่มคือตำแหน่งที่ 1 (ไข่ไก่ด้านแหลม) ตำแหน่งที่ 2-3 (ไข่ไก่ระหว่างตรงกลางกับด้านแหลม และระหว่างตรงกลางกับด้านทู่) ตำแหน่งที่ 4 (ไข่ไก่ด้านทู่) และตำแหน่งที่ 5-8 (ไข่ไก่ด้านข้าง) ดังรูปที่ 3.1 เนียร์อินฟราเรดสเปกตรัมเฉลี่ยของแต่ละตำแหน่งหลังจากที่ทำการปรับข้อมูลด้วยเทคนิค SNV แสดงในรูปที่ 4.2 และ 4.3 สำหรับไข่ไก่ที่ถูกเก็บที่อุณหภูมิ  $4^{\circ}\text{C}$  และ  $25^{\circ}\text{C}$  ตามลำดับ



รูปที่ 4.2 เนียร์อินฟราเรดสเปกตรัมเฉลี่ยของไข่ไก่ที่เก็บในตู้เย็น ( $4^{\circ}\text{C}$ ) หลังจากการทำ standard normal variate (SNV) ในช่วงเลขคลื่นเท่ากับ  $4,000-10,000\text{ cm}^{-1}$  ที่ได้จากการวัดในตำแหน่งต่างๆ ที่ (A) ไข่ไก่ด้านแหลม (B) ไข่ไก่ระหว่างตรงกลางกับด้านแหลม และระหว่างตรงกลางกับด้านทู่ (C) ไข่ไก่ด้านทู่ และ (D) ไข่ไก่ด้านข้าง





รูปที่ 4.3 เนียร์อินฟราเรดสเปกตรัมเฉลี่ยของไข่ไก่ที่เก็บที่อุณหภูมิห้อง ( $25^{\circ}\text{C}$ ) หลังจากการทำ standard normal variate (SNV) ในช่วงเลขคลื่นเท่ากับ 4,000-10,000 ต่อเซนติเมตร ที่ได้จากการวัดในตำแหน่งต่างๆ ที่ (A) ไข่ไก่ด้านแหลม (B) ไข่ไก่ระหว่างตรงกลางกับด้านแหลม และระหว่างตรงกลางกับด้านหุ้ม (C) ไข่ไก่ด้านหุ้ม และ (D) ไข่ไก่ด้านข้าง

จากรูปที่ 4.2 และ 4.3 จะเห็นได้ว่ารูปแบบของเนียร์อินฟราเรดสเปกตรัมของไข่ไก่นั้นมีลักษณะคล้ายกันแม้ว่าจะเป็น การวัดที่ตำแหน่งแตกต่างกันของไข่ไก่ อย่างไรก็ตามความแปรปรวนของสเปกตรัมที่เกิดขึ้นเมื่อเทียบกับวันที่เก็บไข่ไก่นั้นในแต่ละตำแหน่งการวัดจะไม่เท่ากัน นั่นอาจเกิดจากการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมีในแต่ละตำแหน่งของไข่ไก่เมื่อวันเวลาผ่านไปไม่เหมือนกัน เมื่อดูจากเนียร์อินฟราเรดสเปกตรัม พบว่ามีช่วงสัญญาณที่สำคัญและมีการเปลี่ยนแปลงไปตามเวลาที่เก็บไข่ไก่ ทั้งหมด 4 ช่วงดังนี้

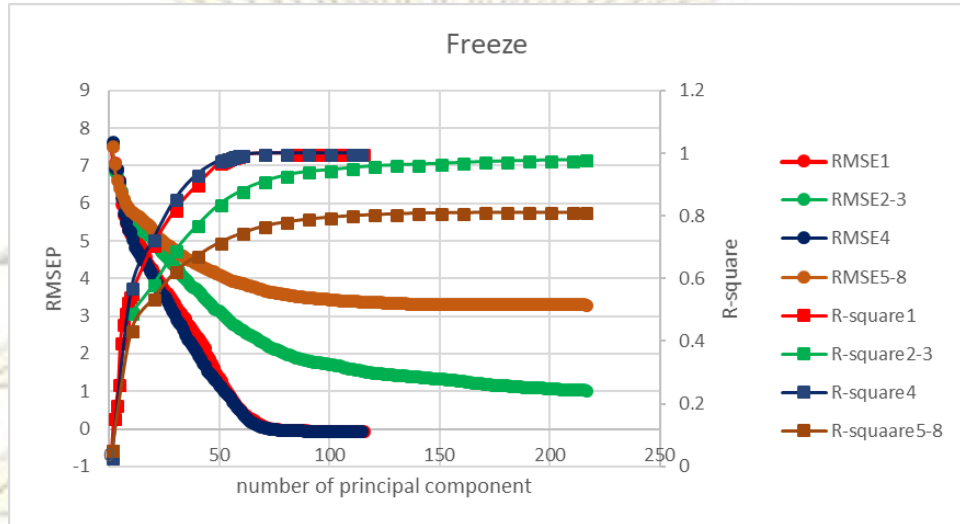
- 1). โอเวอร์โทนลำดับที่สอง (second overtone) ของหมู่ C-H ที่ค่าเลขคลื่น (wavenumber) ประมาณ 6800 ต่อเซนติเมตร
- 2). โอเวอร์โทนลำดับที่หนึ่ง (first overtone) ของโมเลกุลน้ำที่ค่าเลขคลื่น (wavenumber) ประมาณ 5500 ต่อเซนติเมตร
- 3). โอเวอร์โทนลำดับที่หนึ่ง (first overtone) ของโมเลกุลน้ำ ที่ค่าเลขคลื่น (wavenumber) ประมาณ 5200 ต่อเซนติเมตร
- 4). คอมบิเนชัน (combination) ของหมู่ C-H ที่เลขคลื่น (wavenumber) ประมาณ 4200 ต่อเซนติเมตร

#### 4.3. การทำนายค่าหน่วยออกจากเนียร์อินฟราเรดสเปกตรัมด้วยเทคนิคเคโมเมทริกซ์ (chemometrics)

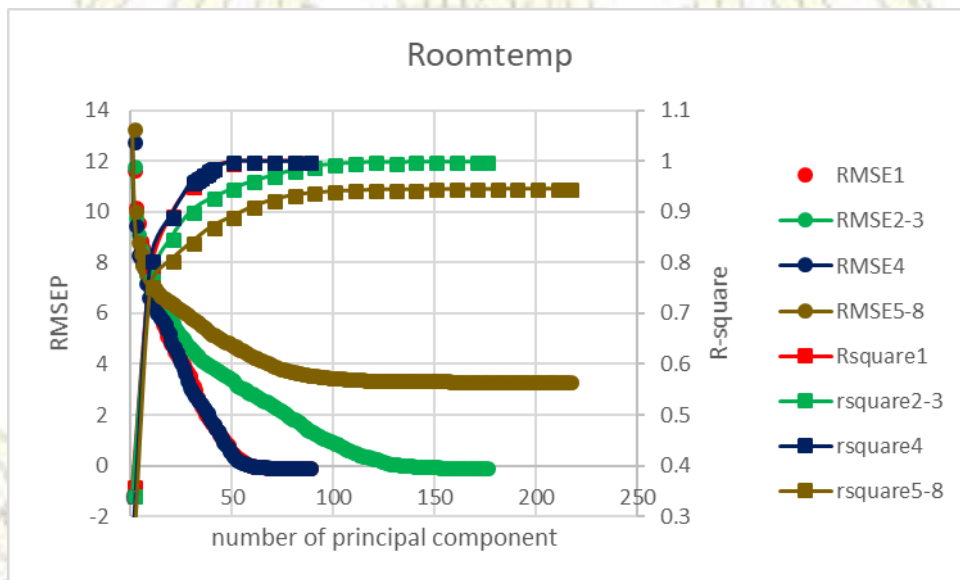
##### 4.3.1. เนียร์อินฟราเรดสเปกตรัมและ standard normal variate ของไข่ไก่

ในส่วนนี้จะเป็นการสร้างสมการสอบเทียบด้วยวิธีกำลังสองน้อยที่สุดบางส่วน สำหรับการใช้นทำนายค่าหน่วยออกจากเนียร์อินฟราเรดสเปกตรัม อย่างไรก็ตามการสร้างสมการสอบเทียบจำเป็นต้องหาจำนวนตัวแปรแฝง  $p$  ที่เหมาะสมและมีประสิทธิภาพสูงสุดที่ใช้ในการทำนาย โดยจะพิจารณาค่า root mean square error of prediction หรือ RMSEP และค่า  $R^2$  ของค่าหน่วยออกที่คำนวณได้จากสมการเมื่อใช้จำนวน  $p$  component ตั้งแต่ 1 ถึงจำนวนที่มากที่สุดในแต่ละตำแหน่งที่ทำการวัด ได้ผลดังแสดงในรูปที่ 4.4 และ 4.5

สำหรับไข่ไก่ที่เก็บที่ 4 °C และ 25 °C ตามลำดับ โดยเมื่อ  $p$  มากขึ้นค่า  $R^2$  ก็สูงสูงขึ้น แสดงถึงความสัมพันธ์ระหว่างค่าหน่วยออกที่วัดได้จริง กับค่าหน่วยออกจากโมเดลมากขึ้น แต่ค่า RMSE จะมีค่าลดลง ซึ่งค่า RMSE หมายถึง ความคลาดเคลื่อนที่เกิดกับค่าหน่วยออกจากโมเดลเมื่อเทียบกับค่าหน่วยออกที่วัดได้จริง



รูปที่ 4.4 แสดงค่า RMSEP และค่า  $R^2$  ของค่าหน่วยออกที่ทำนายได้จากวิธีกำลังสองน้อยที่สุดบางส่วนเมื่อใช้จำนวนตัวแปรแฝงตั้งแต่ 1 ถึง จำนวนมากที่สุดของไข่ไก่ที่เก็บในตู้เย็น (4 °C) (สีแดง) ในตำแหน่งที่ 1 (สีเขียว) ในตำแหน่งที่ 2-3 (สีน้ำเงิน) ในตำแหน่งที่ 4 (สีน้ำตาล) ในตำแหน่งที่ 5



รูปที่ 4.5 แสดงค่า RMSEP และค่า  $R^2$  ของค่าหน่วยออกที่ทำนายได้จากวิธีกำลังสองน้อยที่สุดบางส่วนเมื่อใช้จำนวนตัวแปรแฝงตั้งแต่ 1 ถึง จำนวนมากที่สุดของไข่ไก่ที่เก็บในอุณหภูมิห้อง (25 °C) (สีแดง) ในตำแหน่งที่ 1 (เขียว) ในตำแหน่งที่ 2-3 (สีน้ำเงิน) ในตำแหน่งที่ 4 (สีน้ำตาล) ในตำแหน่งที่ 5-8

โดยจำนวนตัวแปรแฝง  $p$  ที่เหมาะสมในการใช้สร้างสมการสอบเทียบที่แม่นยำ จะพิจารณาเลือกจำนวนตัวแปรแฝง  $p$  ที่น้อยที่สุดที่ทำให้ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ ( $R^2$ ) สูง และค่าความคลาดเคลื่อนจากการทำนาย (RMSE) ต่ำ จำนวนตัวแปรแฝงในแต่ละตำแหน่งการวัดสเปกตรัมของไข่ที่เก็บที่  $4^\circ\text{C}$  และ  $25^\circ\text{C}$  แสดงในตารางที่ 4.1 และ 4.2 ตามลำดับ โดยจำนวนตัวแปรแฝงที่เลือกในแต่ละตำแหน่งจะใช้ค่าที่ไม่เท่ากัน โดยเลือกจากจำนวนตัวแปรแฝงที่ทำให้ค่า  $R^2$  สูงสุดและมีค่า RMSE ต่ำสุด โดยจะเห็นว่า ตำแหน่งที่ 2-3 และตำแหน่งที่ 5-8 จะใช้จำนวนตัวแปรแฝงมากกว่าตำแหน่งที่ 1 และ 4 เนื่องจากมีจำนวนของเนียร์อินฟราเรดสเปกตรัมมากกว่า จึงทำข้อมูลที่มาสร้างสมการสอบเทียบมีค่าความแปรปรวนที่มากกว่าจึงทำให้ต้องใช้จำนวนตัวแปรแฝงที่มากขึ้น เพื่อให้ได้ค่าหน่วยฮอกถูกต้องแม่นยำมากขึ้น

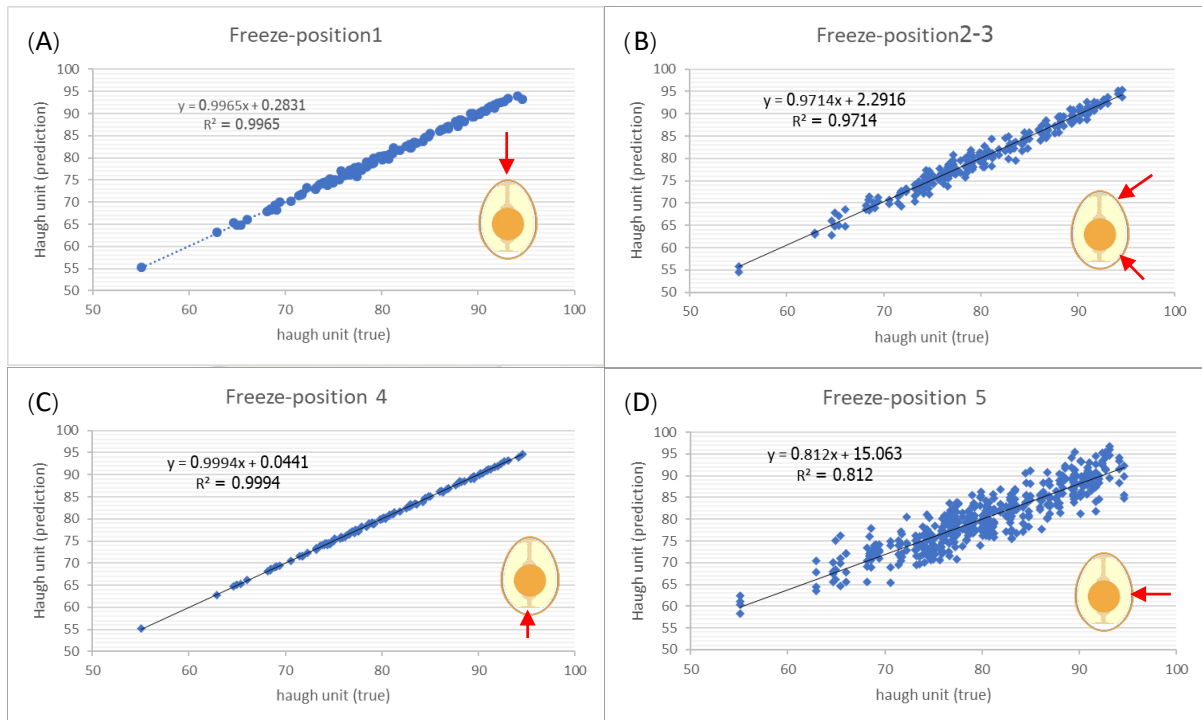
ตารางที่ 4.1 แสดงจำนวนตัวแปรแฝงที่เลือกใช้ในการทำวิธีกำลังสองน้อยที่สุดบางส่วน ในแต่ละตำแหน่งการวัดของไข่ไก่ที่เก็บในตู้เย็น ( $4^\circ\text{C}$ )

ตำแหน่ง	จำนวนตัวแปรแฝงที่ใช้		
	เลือกจาก RMSEP	เลือกจาก $R^2$	ที่ใช้จริง
1 (ไข่ไก่ด้านแหลม)	65	55	60
2-3 (ไข่ไก่ระหว่างตรงกลางกับด้านแหลม และระหว่างตรงกลางกับด้านทุ)	175	150	160
4 (ไข่ไก่ด้านทุ)	65	60	65
5-8 (ไข่ไก่ด้านข้าง)	150	150	150

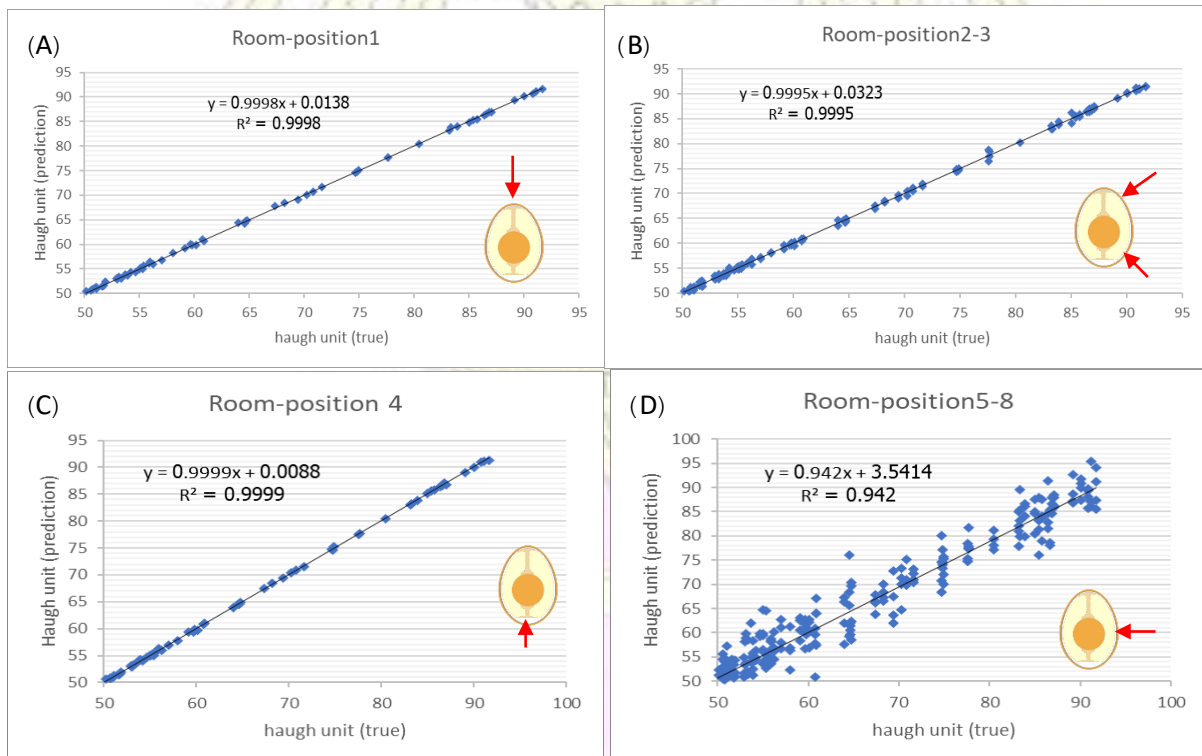
ตารางที่ 4.2 แสดงจำนวนตัวแปรแฝงที่เลือกใช้ในการทำวิธีกำลังสองน้อยที่สุดบางส่วน ในแต่ละตำแหน่งการวัดของไข่ไก่ที่เก็บที่อุณหภูมิห้อง ( $25^\circ\text{C}$ )

ตำแหน่ง	จำนวนตัวแปรแฝงที่ใช้		
	เลือกจาก RMSEP	เลือกจาก $R^2$	ที่ใช้จริง
1 (ไข่ไก่ด้านแหลม)	54	60	55
2-3 (ไข่ไก่ระหว่างตรงกลางกับด้านแหลม และระหว่างตรงกลางกับด้านทุ)	120	110	120
4 (ไข่ไก่ด้านทุ)	55	40	55
5-8 (ไข่ไก่ด้านข้าง)	100	90	100

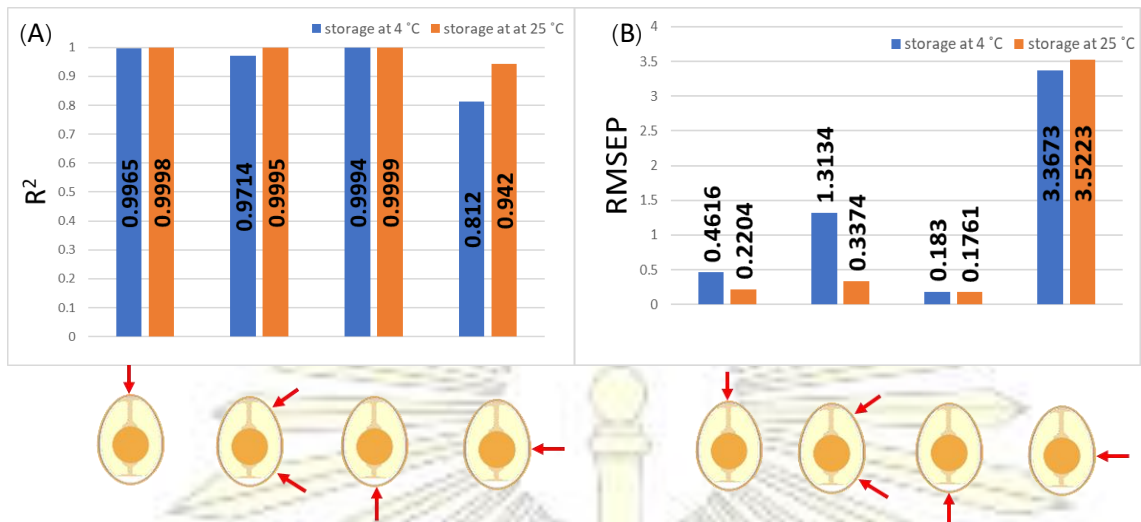
หลักจากที่เลือกจำนวนตัวแปรแฝง ( $p$  component) ที่เหมาะสมได้แล้วนั้น แบบจำลองทางคณิตศาสตร์ของสมการสอบเทียบได้ถูกสร้างขึ้นและใช้ในการทำนายค่าหน่วยฮอก โดยเมื่อเปรียบเทียบค่าหน่วยฮอกจริง (แกน  $x$ ) กับค่าหน่วยฮอกที่ทำนายได้จากสมการสอบเทียบ (แกน  $y$ ) ที่ได้จากข้อมูลเนียร์อินฟราเรดสเปกตรัมของตัวอย่างไข่ไก่ที่ตรวจวัดในตำแหน่งต่างกัน ดังแสดงในรูปที่ 4.6 และรูปที่ 4.7 และค่าทางสถิติที่ได้จากโมเดลได้ดังรูปที่ 4.8



รูปที่ 4.6 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างหน่วยออกที่วัดได้กับค่าหน่วยออกที่ได้จากการทำนายด้วยสมการสอบเทียบ ของไข่ไก่ที่เก็บในตู้เย็น ( $4^{\circ}\text{C}$ ) (A) ที่ตำแหน่งที่ 1 (B) ที่ตำแหน่งที่ 2-3 (C) ที่ตำแหน่งที่ 4 และ (D) ที่ตำแหน่งที่ 5-8



รูปที่ 4.7 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างหน่วยออกที่วัดได้กับค่าหน่วยออกที่ได้จากการทำนายด้วยสมการสอบเทียบ ของไข่ไก่ที่เก็บที่อุณหภูมิห้อง ( $25^{\circ}\text{C}$ ) (A) ที่ตำแหน่งที่ 1 (B) ที่ตำแหน่งที่ 2-3 (C) ที่ตำแหน่งที่ 4 และ (D) ที่ตำแหน่งที่ 5-8



รูปที่ 4.8 (A) เปรียบเทียบค่า  $R^2$  และ (B) เปรียบเทียบค่า RMSEP ของความสัมพันธ์ระหว่าง หน่วยฮอกที่วัดได้ กับค่าหน่วยฮอกที่ได้จากการทำนายด้วยสมการสอบเทียบของไซโกที่เก็บในตู้เย็น ( $4^\circ\text{C}$ ) (สีน้ำเงิน) และที่ อุณหภูมิห้อง  $25^\circ\text{C}$  (สีส้ม)

เมื่อพิจารณาเปรียบเทียบที่ตำแหน่งเดียวกันแต่ต่างอุณหภูมิจะพบว่าสมการสอบเทียบที่ได้จาก NIR สเปกตรัมของไซโกที่เก็บที่  $25^\circ\text{C}$  จะได้ค่า  $R^2$  มากกว่าสมการสอบเทียบ ได้จาก NIR สเปกตรัมของไซโกที่เก็บที่  $4^\circ\text{C}$  เพราะช่วงของหน่วยฮอกที่ใช้ในการสร้างสมการสอบมีช่วงที่แคบกว่า (โดยส่วนใหญ่จะอยู่ในเกรด AA) จึงทำให้เมื่อตัวอย่างไม่ใช่เกรด AA จะทำนาย ได้แม่นยำแต่เมื่อเทียบกับไซโกที่เก็บที่  $25^\circ\text{C}$  ค่าหน่วยฮอกมีการกระจายตั้งแต่เกรด B ถึง เกรด AA จากรูปที่ 4.8 พบว่าค่า RMSE ของโมเดลที่สร้างจากไซโกที่เก็บที่  $4^\circ\text{C}$  จะมีค่าสูงกว่าโมเดลที่สร้างจากไซโกที่เก็บที่  $25^\circ\text{C}$  เนื่องจากในการวัด NIR สเปกตรัมต้องทำการวัดที่อุณหภูมิ  $25^\circ\text{C}$  ดังนั้นในขณะที่ทำการวัด NIR สเปกตรัมของไซโกที่เก็บที่  $4^\circ\text{C}$  น้ำในอากาศจะความชื้นที่ผิวของเปลือกไซโกซึ่งจะสามารถรบกวน NIR สเปกตรัมวัดได้ และจะเห็นได้ว่าตำแหน่งที่ทำนายได้ดีที่สุดคือตำแหน่งที่ 4 เพราะเป็นตำแหน่งที่อยู่ของช่องอากาศ (air cell) ของไซโกซึ่งเป็นส่วนที่ทำหน้าที่แลกเปลี่ยนแก๊สของไซโก นอกจากอากาศแล้วน้ำยังสามารถเข้าออกไซโกในตำแหน่งนี้ได้ดีกว่าตำแหน่งอื่นๆ จึงทำให้เมื่อเวลาผ่านไปตำแหน่งนี้จะเกิดการเปลี่ยนแปลงมากกว่าตำแหน่งอื่นๆ โดยจากรูปค่า  $R^2$  แสดงถึงความสัมพันธ์ระหว่างค่าหน่วยฮอกที่วัดได้ กับค่าหน่วยฮอกที่ได้จากสมการสอบเทียบนั้นมีความสัมพันธ์กันมากน้อยเพียงใดเมื่อ  $R^2$  ใกล้ 1 มากแสดงว่าค่าหน่วยฮอกทั้งสองมีความสัมพันธ์กันมากเช่นกัน และค่า RMSE ถึงความคลาดเคลื่อนของค่าหน่วยฮอกที่ได้จากสมการสอบเทียบว่าแตกต่างจากค่าที่วัดได้จริงไม่เกินค่า RMSE



## บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย

จากการใช้เนียร์อินฟราเรดสเปกตรัมวัดไซโกที่ถูกเก็บที่อุณหภูมิ  $4^{\circ}\text{C}$  และ  $25^{\circ}\text{C}$  เนียร์อินฟราเรดสเปกตรัมที่ได้พบว่าสเปกตรัมที่ได้เกิด baseline shift จึงทำการเตรียมข้อมูลก่อนการวิเคราะห์ ด้วยเทคนิคด้วย Savitzky-Golay smoothing และ standard normal variate (SNV) จะสามารถสังเกตพีก จะมีพีกที่ปรากฏขึ้นหลักอยู่ 4 พีก ได้แก่ ช่วงโอเวอร์โทนลำดับที่สอง (second overtone) ของหมู่ C-H ที่ค่าเลขคลื่น (wavenumber) ประมาณ 6800 ต่อเซนติเมตร ช่วงโอเวอร์โทนลำดับที่หนึ่ง (first overtone) ของโมเลกุลน้ำ ที่ค่าเลขคลื่น (wavenumber) ประมาณ 5200 ต่อเซนติเมตร ช่วงคอมบิเนชัน (combination) ของหมู่ C-H ที่เลขคลื่น (wavenumber) ประมาณ 4200 ต่อเซนติเมตร และที่ประมาณ 5500 ต่อเซนติเมตร เป็นคอมบิเนชันของโมเลกุลน้ำ

เมื่อนำสเปกตรัมที่ได้จากการเตรียมข้อมูลมาใช้สร้างสมการสอบเทียบโดยใช้วิธีกำลังสองน้อยที่สุดบางส่วน (partial least square) โดยใช้จำนวนองค์ประกอบหลักที่แตกต่างกันไปในแต่ละอุณหภูมิที่เก็บ และตำแหน่งที่ทำการวัดสเปกตรัม โดยไซโกที่เก็บในตู้เย็นซึ่งมีอุณหภูมิประมาณ  $4^{\circ}\text{C}$  สเปกตรัม ที่ได้จากการวัดในตำแหน่งที่ 1, 2-3, 4, 5-8 จะใช้จำนวนองค์ประกอบหลักเท่ากับ 60 160 65 และ 150 ตามลำดับ และได้ RMSE ในการทำนายหน่วยออกเท่ากับ 0.4616, 1.3134, 0.1830 และ 3.3673 ตามลำดับ และได้ค่า  $R^2$  เท่ากับ 0.9965, 0.9714, 0.9994 และ 0.8120 ตามลำดับ และไซโกที่เก็บในอุณหภูมิห้องประมาณ  $25^{\circ}\text{C}$  สเปกตรัมที่ได้จากการวัดในตำแหน่งที่ 1, 2-3, 4, 5-8 จะใช้จำนวนองค์ประกอบหลักเท่ากับ 55, 120, 55, 100 และ 150 ตามลำดับ และได้ RMSE ในการทำนายหน่วยออกเท่ากับ 0.2204, 0.3374, 0.1761 และ 3.5223 ตามลำดับ และได้ค่า  $R^2$  เท่ากับ 0.9998, 0.9995, 0.9999, และ 0.942 ตามลำดับ

## อ้างอิง

1. หนังสือพิมพ์ฉบับวันที่ 19 เมษายน พ.ศ.2560 Available at:  
<https://www.matichon.co.th/news/533456>
2. Hao Lin; Jiewen Zhao; Li Sun, Quansheng Chen; Fang Zhou, Freshness measurement of eggs using near infrared (NIR) spectroscopy and multivariate data analysis: *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 12 (2011) 182–186
3. Alessandro Giunchi; Annachiara Berardinelli; Luigi Ragni; Angelo Fabbri; Florina Aurelia Silaghi, Non-destructive freshness assessment of shell eggs using FT-NIR spectroscopy: *Journal of Food Engineering* 89 (2008) 142–148
4. Jiewen Zhao; Hao Lin; Quansheng Chen; Xingyi Huang; Zongbao Sun; Fang Zhou, Identification of egg's freshness using NIR and support vector data description: *Journal of Food Engineering* 98 (2010) 408–414
5. Julian Coronel-Reyesa; Ivan Ramirez-Moralesa; Enrique Fernandez-Blancob; Daniel Riverob; Alejandro Pazosb, Determination of egg storage time at room temperature using a low-cost NIR spectrometer and machine learning techniques: *Computers and Electronics in Agriculture* 145 (2018) 1-10
6. Celio Pasquini, Near Infrared Spectroscopy: *Fundamentals, Practical Aspects and Analytical Applications*, *J. Braz. Chem. Soc.*, Vol. 14, No. 2, (2003) 198-219
7. Ocean optic, Diffuse Standards for Reflectance Measurements Available at:  
<https://oceanoptics.com/product/ws-1-reflectance-standards/>  
Accessed April 30, 2018
8. Richard spragg, Reflection Measurements in IR Spectroscopy, Available at:  
[https://www.perkinelmer.com/lab-solutions/resources/docs/TCH\\_reflection-Measurements.pdf](https://www.perkinelmer.com/lab-solutions/resources/docs/TCH_reflection-Measurements.pdf)
9. ไช้ขาว Available at:  
<https://th.wikipedia.org/wiki/ไช้ขาว>  
Accessed April 30, 2018
10. Egg cyclopedia - Air Cell Available at:  
<https://www.incredibleegg.org/eggcyclopedia/a/air-cell/>  
Accessed May 23, 2018
11. Effect of Temperature on the Activity of Trypsin Available at:  
<https://www.emaze.com/@AOOCOLLI/Bio-temp.-trypsin>  
Accessed May 23, 2018

### ประวัติผู้วิจัย

นายชนะสิทธิ์ ไหลสงวนงาม เกิดเมื่อวันที่ 16 เดือนสิงหาคม พ.ศ.2538 ที่จังหวัดอ่างทอง สำเร็จการศึกษาชั้นมัธยมศึกษาตอนปลายจากโรงเรียนบริหารแจ่มใสวิทยา 3 จังหวัดสุพรรณบุรี เมื่อปีการศึกษา 2556 เคยได้รับเข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปีการศึกษา 2557 ที่อยู่ที่สามารถติดต่อได้ บ้านเลขที่ 531 หมู่ 5 ตำบลหนองมะค่าโมง อำเภอด่านช้าง จังหวัดสุพรรณบุรี รหัสไปรษณีย์ 72180 อีเมล Thanasit.L95@gmail.com

